

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 669**

51 Int. Cl.:

C12N 9/90 (2006.01)
C12N 9/92 (2006.01)
C12P 7/06 (2006.01)
C12P 7/10 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
C12N 1/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2011 E 11736225 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2015 EP 2588606**

54 Título: **Utilización mejorada de xilosa en bacterias Zymomonas recombinantes que presentan una actividad ribosa-5-fosfato aumentada**

30 Prioridad:

29.06.2010 US 359445 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.09.2015

73 Titular/es:

**E. I. DU PONT DE NEMOURS AND COMPANY
(100.0%)
1007 Market Street
Wilmington, DE 19898, US**

72 Inventor/es:

**CAIMI, PERRY G.;
MCCOLE, LAURA;
TAO, LUAN;
TOMB, JEAN-FRANCOIS y
VIITANEN, PAUL V.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 546 669 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Utilización mejorada de xilosa en bacterias *Zymomonas* recombinantes que presentan una actividad ribosa-5-fosfato aumentada

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere a los campos de la microbiología y la ingeniería genética. Más específicamente, el aumento de la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en bacterias *Z. mobilis* que utilizan xilosa mejoró la utilización de xilosa por el microorganismo.

Antecedentes de la invención

- 10 La producción de etanol por microorganismos proporciona una fuente de energía alternativa a los combustibles fósiles y, por lo tanto, es un área importante de la investigación actual. Es deseable que los microorganismos que producen etanol, así como otros productos útiles, sean capaces de utilizar xilosa como una fuente de carbono ya que la xilosa es la pentosa principal en la biomasa lignocelulósica hidrolizada. La biomasa puede proporcionar un sustrato carbonado de bajo coste y abundantemente disponible. La bacteria *Zymomonas mobilis* y otras bacterias etanologénicas que no utilizan xilosa de forma natural han sido genéticamente modificadas en cuanto a la utilización de xilosa mediante la introducción de genes que codifican 1) xilosa isomerasa, que cataliza la conversión de xilosa en xilulosa; 2) xilulocinasa, que fosforila la xilulosa para formar xilulosa-5-fosfato; 3) transcetolasa; y 4) transaldolasa.

- 20 Ha habido éxito en la modificación de cepas de *Z. mobilis* en cuanto al metabolismo de la xilosa [(Documentos US 5514583, US 5712133, US 6566107 y WO 95/28476; Feldmann et al. (1992), Appl. Microbiol. Biotechnol. 38: 354-361; Zhang et al. (1995), Science 267: 240-243], así como una cepa de *Zymobacter palmae* [Yanase et al. (2007), Appl. Environ. Microbiol. 73: 2592-2599]. Sin embargo, típicamente, las cepas modificadas no crecen ni producen etanol tan bien sobre xilosa como sobre glucosa. Las cepas modificadas para la utilización de xilosa han sido adaptadas mediante subcultivos sucesivos sobre medio de xilosa para dar lugar a cepas con una utilización mejorada de xilosa, como se describe en la Patente de EE.UU. nº 7.223.575 y en la Patente de EE.UU. nº 7.741.119 en propiedad común y tramitación con la presente. En la Solicitud de Patente de EE.UU. nº US 2009-0246846 A1, en propiedad común y tramitación con la presente, se describe el hallazgo de que una cepa adaptada con mayor utilización de xilosa presenta una actividad xilosa isomerasa aumentada, y la modificación para una utilización mejorada de xilosa mediante la expresión de xilosa isomerasa a partir de un promotor mutado y muy activo (*Pgap*) del gen de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de *Zymomonas mobilis*. Sin embargo, la utilización de xilosa no es todavía comparable a la utilización de glucosa.

25 Sigue habiendo la necesidad de cepas de *Zymomonas*, y de otras bacterias etanologénicas, que presenten una mejora adicional en la utilización de xilosa.

Sumario de la invención

- 35 La invención proporciona células de *Zymomonas* o *Zymobacter* que producen etanol y utilizan xilosa recombinantes, que son modificadas para que presenten una actividad ribosa-5-fosfato isomerasa (RPI) aumentada. Se ha descubierto que, en cepas cuya actividad xilosa isomerasa es elevada, el flujo de carbono a la RPI es también elevado y da lugar a la generación de los subproductos indeseables ribulosa-5 fosfato y/o ribulosa (catalizada por fosfatasas celulares), que se acumulan en el medio. La generación de estos subproductos desvía el carbono que se podría utilizar en la producción de etanol. La solución de los solicitantes a este problema recién descubierto es aumentar la actividad de la RPI para dirigir más carbono a los productos deseados de la ruta metabólica de la xilosa (fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-6-fosfato) que se utilizan en la generación de etanol. De este modo, en cepas de *Zymomonas* o *Zymobacter* que utilizan xilosa, que acumulan ribulosa-5-fosfato y/o ribulosa cuando se cultivan en un medio que contiene xilosa, un aumento de la actividad RPI mejora el crecimiento celular, la utilización de xilosa y la producción de etanol.

- 45 En consecuencia, la invención proporciona una célula huésped bacteriana recombinante que comprende:

- a) una ruta metabólica de la xilosa que comprende al menos un gen que codifica un polipéptido que presenta actividad xilosa isomerasa;
- b) al menos un gen que codifica un polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa; y
- 50 c) al menos una modificación genética que aumenta la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en la célula huésped en comparación con la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en la célula huésped que carece de dicha modificación genética;

en donde la célula huésped bacteriana utiliza xilosa para producir etanol, y en donde la célula huésped bacteriana es seleccionada del grupo que consiste en *Zymomonas* y *Zymobacter*, y en donde la al menos una modificación genética de la operación (c) comprende aumentar el número de copias génicas de un gen que codifica un

polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa y/o hacer que se exprese dicho gen que codifica ribosa-5-fosfato isomerasa a partir de un promotor de alta expresión.

La ribosa-5-fosfato isomerasa de la invención puede ser del tipo "A" o del tipo "B", como se describen en esta memoria. Las ribosa-5-fosfato isomerasas del tipo "A" preferidas son aquellas que:

5 i) proporcionan una puntuación del valor E de 0,1 o menos cuando se hace la búsqueda empleando un perfil de modelo oculto de Markov preparado usando las ID. SEC. números 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96 y 97; llevándose a cabo la búsqueda utilizando el algoritmo hmmsearch en el que se ajusta el parámetro Z a 1000 millones, y

10 ii) tienen ácido aspártico y ácido glutámico en las posiciones que corresponden a 107 y 129, respectivamente, en la proteína RPI-A de *Saccharomyces cerevisiae* de ID. SEC. nº 97.

Similarmente, las ribosa-5-fosfato isomerasas del tipo "B" preferidas son aquellas que:

i) proporcionan una puntuación del valor E de 0,1 o menos cuando se hace la búsqueda empleando un perfil de modelo oculto de Markov preparado usando las ID. SEC. números 1213, 1214, 1215, 1216 y 1217; llevándose a cabo la búsqueda utilizando el algoritmo hmmsearch en el que se ajusta el parámetro Z a 1000 millones,

15 ii) o bien tienen cisteína y treonina en las posiciones que corresponden a 66 y 68, respectivamente, en la proteína RPI-B de *E. coli* de ID. SEC. nº 1216, o bien tienen serina y ácido glutámico en las posiciones que corresponden a 68 y 72, respectivamente, en la proteína RPI-B de *M. tuberculosis* de ID. SEC. nº 1213, y

iii) tienen asparagina, glicocola, ácido aspártico, serina o ácido glutámico, pero no leucina, en la posición que corresponde a 100 en la proteína RPI-B de *E. coli* de ID. SEC. nº 1216.

20 Las xilosa isomerasas preferidas para uso en la invención son aquéllas que tienen una puntuación del valor E inferior o igual a 3×10^{-10} cuando se hace la búsqueda empleando un perfil HMM preparado usando las ID. SEC. números 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79 y 81 y que tienen cuatro restos de sitio catalítico: histidina 54, ácido aspártico 57, ácido glutámico 181 y lisina 183, con los números de posición en relación con la secuencia de xilosa isomerasa de *Streptomyces albus* de ID. SEC. nº 61.

25 Un método para preparar una célula huésped bacteriana recombinante para la producción de etanol puede comprender:

a) proporcionar una célula huésped de bacteria *Zymomonas* o *Zymobacter* que comprende una ruta metabólica de la xilosa, en donde la célula huésped bacteriana produce etanol en presencia de xilosa y acumula ribulosa-5-fosfato, ribulosa o ambas, ribulosa-5-fosfato y ribulosa, en el medio cuando se cultiva en un medio que comprende xilosa; y

35 b) modificar genéticamente la célula huésped bacteriana de (a), en donde la modificación genética aumenta la expresión de la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en la célula huésped en comparación con la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en la célula huésped que carece de dicha modificación genética, en donde dicha modificación comprende aumentar el número de copias génicas de un gen que codifica un polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa y/o hacer que se exprese dicho gen de ribosa-5-fosfato isomerasa a partir de un promotor de alta expresión, y en donde ya no se acumulan ribulosa-5-fosfato, ribulosa ni ambas, ribulosa-5-fosfato y ribulosa, en el medio.

En otra realización, la invención proporciona un proceso para producir etanol, que comprende:

a) proporcionar una célula huésped bacteriana recombinante de la invención que produce etanol; y
 40 b) cultivar la célula huésped bacteriana de (a) en un medio que comprende xilosa, mediante lo cual se convierte la xilosa en etanol.

Breve descripción de los depósitos biológicos, las figuras y las descripciones de secuencias

Los solicitantes han realizado los siguientes depósitos biológicos bajo los términos del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos con las Finalidades de Procedimiento de Patente:

45 Información sobre cepas depositadas

Referencia de identificación del depositante	Denominación internacional de la depositaria	Fecha de depósito
<i>Zymomonas</i> ZW658	ATCC nº PTA-7858	12 de septiembre de 2006

En la Figura 1 se muestra un diagrama de las rutas del metabolismo de xilosa y de la fermentación etanólica en bacterias *Zymomonas* modificadas en cuanto a la utilización de xilosa.

En la Figura 2 se muestra el análisis por HPLC de medios de cultivo después del crecimiento de la cepa ZW801-4 en medios que contienen glucosa (línea continua) o xilosa (línea discontinua).

5 En la Figura 3 se muestran gráficos de crecimiento (A), utilización de xilosa (B), producción de etanol (C), y acumulación de ribulosa en medios (D) de cultivos de cepas testigo ZW801-4 (ZW801-4#1 y ZW801-4#2) y cepas ZW801-4 que contienen un plásmido que contiene un gen quimérico con un promotor GI de *A. missouriensis* y una región de codificación de RPI-A de *Z. mobilis* (RPI-1 y RPI-2).

10 En la Figura 4 se muestra un gráfico del crecimiento de cepas testigo ZW801-4 (ZW801-1 y ZW801-2) y cepas ZW801-4 que contienen un plásmido que contiene un gen quimérico con un promotor GAP de *Z. mobilis* nativo y una región de codificación de RPI-A de *E. coli* (ZW801-rpiEc-1 y ZW801-rpiEc-2).

En la Figura 5 se muestra un gráfico del crecimiento de cepas testigo ZW801-4 (801/pZB188-1 y 801/pZB188-3) y cepas ZW801-4 que contienen un plásmido que contiene un gen quimérico con un promotor GAP de *Z. mobilis* y una región de codificación de *xylA* de *E. coli* (801/pXylA-2 y 801/pXylA-4).

15 En la Figura 6 se muestran gráficos de crecimiento (A), utilización de xilosa (B), producción de etanol (C), y acumulación de ribulosa en medios (D) de cultivos de cepas testigo ZW801-4 (ZW801-1 y ZW801-2) y cepas ZW801-4 que contienen un plásmido que contiene un gen quimérico con un promotor GI de *A. missouriensis* y una región de codificación de RPI-A de *Z. mobilis*, y un plásmido que contiene un gen quimérico con un promotor GAP de *Z. mobilis* y una región de codificación de *xylA* de *E. coli* (*xylA*/GI-rpiZ1.1 y *xylA*/GI-rpiZ1.2).

20 En la Figura 7 se muestra un gel teñido de marcadores (carril 1) y extractos proteicos totales de células que expresan RPI-A con un codón de inicio ATG en ZW801 GAP-rpi-1, ZW801 GAP-rpi-3 y ZW801 GAP-rpi-4 (carriles 2, 3 y 4, respectivamente), y testigos que expresan RPI-A con el codón de inicio GTG nativo (carriles 5 y 6), con la posición de la proteína RPI-A de *Z. mobilis* marcada mediante una flecha.

25 La Tabla 3 es una tabla del perfil HMM para xilosa isomerasas. La Tabla 3 se adjunta electrónicamente y se incorpora a la memoria por referencia.

La Tabla 4 es una tabla del perfil HMM para proteínas RPI-A. La Tabla 4 se adjunta electrónicamente y se incorpora a la memoria por referencia.

La Tabla 5 es una tabla del perfil HMM para proteínas RPI-B. La Tabla 5 se adjunta electrónicamente y se incorpora a la memoria por referencia.

30 Las secuencias siguientes se ajustan a 37 C.F.R. 1.821-1.825 ("Requisitos para Solicitudes de Patente que Contienen Descripciones de Secuencias de Nucleótidos y/o Secuencias de Aminoácidos – Las Reglas de Secuencias") y son coherentes con la Norma ST.25 (1998) de la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (WIPO; del inglés, World Intellectual Property Organization) y los requisitos de listas de secuencias de la EPO y el PCT [Reglas 5.2 y 49.5 (a-bis), y la Sección 208 y el Anexo C de las Instrucciones Administrativas]. Los símbolos y el formato empleados para los datos de secuencias de nucleótidos y de aminoácidos se ajustan a las reglas expuestas en 37 C.F.R. §1.822.

Las ID. SEC. números 1-13 son cebadores oligonucleotídicos.

La ID. SEC. nº 14 es la secuencia de nucleótidos del promotor del gen de glucosa isomerasa de *Actinoplanes missouriensis*.

40 La ID. SEC. nº 15 es la secuencia de nucleótidos del plásmido pZB188/aadA.

La ID. SEC. nº 16 es la secuencia de nucleótidos del plásmido pZB-GI-RPI.

La ID. SEC. nº 17 es la secuencia de nucleótidos del promotor de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAP) de la cepa ZW1 (ZW4) de *Z. mobilis*.

La ID. SEC. nº 18 es la secuencia de nucleótidos del casete *PgapXylA* de expresión de xilosa isomerasa.

45 Tabla 1. Números de ID. SEC. de proteínas xilosa isomerasa y sus regiones de codificación

Organismo	Proteína de ID. SEC. nº:	Región de codificación de ID. SEC. nº:
<i>Escherichia coli</i> K12	19	20
<i>Lactobacillus brevis</i> ATCC 367	21	22

ES 2 546 669 T3

Organismo	Proteína de ID. SEC. nº:	Región de codificación de ID. SEC. nº:
<i>Thermoanaerobacterium</i>	23	24
<i>Clostridium thermosulfurogenes</i>	25	26
<i>Actinoplanes missouriensis</i>	27	28
Cepa B3728 de <i>Arthrobacter</i>	29	30
<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580	31	32
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	33	34
<i>Bacillus coagulans</i> 36D1	35	36
Cepa 168 de <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	37	38
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482	39	40
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	41	42
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i> SCRI1043	43	44
<i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	45	46
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> MGH 78578	47	48
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	49	50
<i>Lactobacillus reuteri</i> 100-23	51	52
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> ATCC 8293	53	54
<i>Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes</i>	55	56
<i>Thermotoga neapolitana</i>	57	58
<i>Streptomyces rubiginosus</i>	59	60
<i>Streptomyces albus</i>	61	62 ¹
<i>Thermus thermophilus</i>	63	64
<i>Streptomyces diastaticus</i>	65	66
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	67	68
<i>Thermus caldophilus</i>	69	70 ²
Cepa 85-10 de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	71	72
<i>Thermus aquaticus</i>	73	74 ³
<i>Tetragenococcus halophilus</i>	75	76
<i>Staphylococcus xylosum</i>	77	78
Cepa MC2 155 de <i>Mycobacterium smegmatis</i>	79	80
<i>Piromyces</i> sp. E2	81	82

¹Se diseña esta secuencia de codificación, basándose en la secuencia de codificación de *Streptomyces rubiginosus*, para que codifique la proteína de *Streptomyces albus* (que tiene tres diferencias de aminoácido con la proteína de *Streptomyces rubiginosus*).

²Se diseña esta secuencia de codificación, basándose en una secuencia de codificación de *Thermus thermophilus*, para que codifique la proteína de *Thermus caldophilus* (que tiene 21 diferencias de aminoácido con la proteína de *Streptomyces rubiginosus*).

³Esta secuencia de codificación es de *Thermus thermophilus* y se traduce en la proteína de *Thermus aquaticus*, aunque la secuencia de codificación de *Thermus aquaticus* puede tener diferencias debidas a la degeneración de codones.

Tabla 2. Números de ID. SEC. de proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa usadas como secuencias semilla para el análisis de la estructura de RPI-A, y sus regiones de codificación

Organismo	Proteína de ID. SEC. n°:	Región de codificación de ID. SEC. n°:
Cepa K-12, subcepa DH10B, de <i>Escherichia coli</i>	83	2108
<i>Enterobacter cloacae</i>	84	2109
<i>Vibrio vulnificus</i>	85	2110
<i>Thermus thermophilus</i> HB8	86	2111
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	87	2112
<i>Spinacia oleracea</i>	88	2113
<i>Arabidopsis thaliana</i>	89	2114
<i>Arabidopsis thaliana</i>	90	2115
<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7	91	2116
<i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3	92	2117
<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> DSM 2661	93	2118
<i>Fibrobacter succinogenes</i> subsp. <i>succinogenes</i> S85	94	2119
<i>Homo sapiens</i>	95	2120
<i>Caenorhabditis elegans</i>	96	2121
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	97	2122

Las ID. SEC. números 98-1212 son proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa RPI-A.

Las ID. SEC. números 2123-3237 son secuencias que codifican proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa RPI-A.

- 5 Tabla 3. Números de ID. SEC. de proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa usadas como secuencias semilla para el análisis de la estructura de RPI-B, y sus regiones de codificación

Organismo	Proteína de ID. SEC. n°:	Región de codificación de ID. SEC. n°:
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	1213	3238
<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	1214	3239
<i>Clostridium thermocellum</i> ATCC 27405	1215	3240
Cepa K12, subcepa MG1655, de <i>Escherichia coli</i>	1216	3241
Cepa CL Brener de <i>Trypanosoma cruzi</i>	1217	3242

Las ID. SEC. números 1218-2107 son proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa RPI-B.

Las ID. SEC. números 3243-4132 son secuencias que codifican proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa RPI-B.

Descripción detallada

- 10 Se describen en esta memoria cepas de *Zymomonas* o *Zymobacter* que utilizan xilosa, que están genéticamente modificadas para que presenten una expresión aumentada de actividad ribosa-5-fosfato isomerasa (RPI) en comparación con cepas sin la modificación genética. Cuando se produce ribulosa como un producto secundario en la utilización de xilosa, la actividad RPI aumentada proporciona una utilización mejorada de xilosa, que se desea para el crecimiento en medios que contienen xilosa, incluyendo biomasa sacarificada, lo que conduce a una producción aumentada de etanol. El etanol es un compuesto importante para uso en la sustitución de los combustibles fósiles, y la biomasa sacarificada proporciona una fuente de carbono renovable para la producción de etanol por fermentación.
- 15

Las definiciones siguientes pueden ser empleadas para la interpretación de las reivindicaciones y la memoria descriptiva.

Como se emplean en esta memoria, con los términos y expresiones "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "tiene", "que tiene", "contiene" y "que contiene", y cualquier otra variación de los mismos, se pretende cubrir una inclusión no exclusiva. Por ejemplo, una composición, mezcla, proceso, método, artículo o aparato que comprende una lista de elementos no se limita necesariamente a sólo esos elementos sino que puede incluir otros elementos no expresamente enumerados o inherentes a dicha composición, mezcla, proceso, método, artículo o aparato. Además, a menos que se afirme expresamente lo contrario, "o" se refiere a un "o" inclusivo y no a un "o" exclusivo. Por ejemplo, una condición A o B se satisface mediante cualquiera de los puntos siguientes: A es cierto (o está presente) y B es falso (o no está presente), A es falso (o no está presente) y B es cierto (o está presente), o tanto A como B son ciertos (o están presentes).

Además, se considera que los artículos indefinidos "un" y "una" que preceden a un elemento o componente de la invención son no restrictivos en cuanto al número de casos (es decir, sucesos) del elemento o componente. Por lo tanto, se debería leer que "un" o "una" incluye uno o al menos uno, y la forma de palabra singular del elemento o componente también incluye el plural a menos que el número signifique obviamente que es singular.

La expresión "invención" o "presente invención", como se emplea en esta memoria, es una expresión no restrictiva y con ella no se pretende referir a una sola realización de la invención particular sino que abarca todas las posibles realizaciones como las descritas en la memoria descriptiva y las reivindicaciones.

Como se emplea en esta memoria, el término "aproximadamente" que modifica la cantidad de un ingrediente o reactivo de la invención empleado se refiere a una variación en la cantidad numérica que se puede presentar, por ejemplo, a lo largo de procedimientos típicos de manipulación de líquidos y medición empleados para preparar concentrados o usar disoluciones en el mundo real; a causa de un error involuntario en estos procedimientos; a causa de diferencias en la fabricación, la fuente o la pureza de los ingredientes empleados para preparar las composiciones o llevar los métodos a cabo; y similares. El término "aproximadamente" también abarca cantidades que difieren a causa de unas diferentes condiciones de equilibrio para una composición que resulta de una mezcla inicial particular. Estén o no modificadas por el término "aproximadamente", las reivindicaciones incluyen equivalentes a las cantidades. En una realización, el término "aproximadamente" significa dentro del 10% del valor numérico indicado, preferiblemente dentro del 5% del valor numérico indicado.

La expresión "sustrato carbonado" o "sustrato carbonado fermentable" se refiere a una fuente de carbono que puede ser metabolizada por organismos huésped de la presente invención y, particularmente, a fuentes de carbono seleccionadas del grupo que consiste en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

"Gen" se refiere a un fragmento de ácido nucleico que expresa una proteína específica o una molécula de RNA funcional, que puede incluir opcionalmente secuencias reguladoras que preceden (secuencias no codificadoras 5') y siguen (secuencias no codificadoras 3') a la secuencia codificadora. "Gen nativo" o "gen de tipo silvestre" se refieren a un gen como el hallado en la naturaleza, con sus propias secuencias reguladoras. "Gen quimérico" se refiere a cualquier gen que no es un gen nativo, que comprende secuencias reguladoras y codificadoras que no se hallan juntas en la naturaleza. En consecuencia, un gen quimérico puede comprender secuencias reguladoras y secuencias codificadoras que proceden de diferentes fuentes, o secuencias reguladoras y secuencias codificadoras procedentes de la misma fuente pero dispuestas de un modo diferente al hallado en la naturaleza.

"Gen endógeno" se refiere a un gen nativo en su posición natural en el genoma de un organismo. Un gen "extraño" se refiere a un gen no hallado normalmente en el organismo huésped pero que se introduce en el organismo huésped por transferencia génica. Los genes extraños pueden comprender genes nativos insertados en un organismo no nativo, o genes quiméricos.

La expresión "construcción genética" se refiere a un fragmento de ácido nucleico que codifica la expresión de una o más proteínas específicas o moléculas de RNA funcionales. En una construcción génica el gen puede ser de naturaleza nativa, quimérica o extraña. Típicamente, una construcción genética comprenderá una "secuencia de codificación". Una "secuencia de codificación" se refiere a una secuencia de DNA que codifica una secuencia de aminoácidos específica.

"Promotor" o "regiones de control de la iniciación" se refieren a una secuencia de DNA capaz de controlar la expresión de una secuencia de codificación o un RNA funcional. En general, una secuencia de codificación está situada en 3' con respecto a una secuencia promotora. Los promotores pueden proceder en su totalidad de un gen nativo o pueden estar compuestos de diferentes elementos procedentes de diferentes promotores hallados en la naturaleza, o incluso comprender segmentos de DNA sintéticos. Los expertos en la técnica entienden que diferentes promotores pueden dirigir la expresión de un gen en diferentes tejidos o tipos celulares, o en diferentes fases de desarrollo, o en respuesta a diferentes condiciones ambientales. A los promotores que causan que un gen se exprese la mayoría de las veces en la mayoría de los tipos celulares se hace comúnmente referencia como "promotores constitutivos".

La expresión "modificación genética" se refiere, no inclusivamente, a cualquier modificación, mutación, supresión de bases, adición de bases, modificación de codones, sobreexpresión de genes, supresión de genes, modificación o sustitución de promotores, adición de genes (sean de copia única o múltiple), expresión o supresión antisentido, o

cualquier otro cambio en los elementos genéticos de una cepa bacteriana o célula huésped, ya produzcan un cambio en el fenotipo o no.

La expresión "célula huésped bacteriana recombinante" se refiere a una célula bacteriana que comprende al menos un gen o construcción genética o fragmento de ácido nucleico heterólogos.

5 El término "expresión", como se emplea en esta memoria, se refiere a la transcripción y la acumulación estable de RNA de codificación (mRNA) o funcional procedente de un gen. La expresión puede hacer también referencia a la traducción de mRNA en una proteína. "Inhibición antisentido" se refiere a la producción de transcritos de RNA antisentido capaces de suprimir la expresión de la proteína diana. "Sobreexpresión" se refiere a la producción de un producto génico en organismos transgénicos que sobrepasa los niveles de producción en organismos normales o no transformados. "Cosupresión" se refiere a la producción de transcritos o fragmentos de RNA sentido capaces de suprimir la expresión de genes extraños o endógenos idénticos o sustancialmente similares (Documento U.S. 5.231.020). El término "transformación", como se emplea en esta memoria, se refiere a la transferencia de un fragmento de ácido nucleico a un organismo huésped para dar lugar a una herencia genéticamente estable. El ácido nucleico transferido puede estar en forma de un plásmido mantenido en la célula huésped, o algún ácido nucleico transferido se puede integrar en el genoma de la célula huésped. A los organismos huésped que contienen los fragmentos de ácido nucleico transformados se hace referencia como organismos "transgénicos" o "recombinantes" o "transformados".

20 Los términos "plásmido" y "vector", como se emplean en esta memoria, se refieren a un elemento extracromosómico que a menudo lleva genes que no son parte del metabolismo central de la célula, y normalmente en forma de moléculas de DNA circular de doble cadena. Dichos elementos pueden ser secuencias que se replican autónomamente, secuencias que se integran en el genoma, secuencias de fago o de nucleótidos, lineales o circulares, de un DNA o RNA de cadena sencilla o doble, procedentes de cualquier fuente, en que un número de secuencias de nucleótidos se han juntado o recombinado en una construcción única que es capaz de introducir en una célula un fragmento de promotor y una secuencia de DNA para un producto génico seleccionado junto con la apropiada secuencia 3' no traducida.

30 La expresión "operativamente ligado" se refiere a la asociación de secuencias de ácido nucleico sobre un único fragmento de ácido nucleico de modo que la función de una resulta afectada por la otra. Por ejemplo, un promotor está operativamente ligado a una secuencia de codificación cuando es capaz de afectar a la expresión de esa secuencia de codificación (es decir, que la secuencia de codificación está bajo el control transcripcional del promotor). Las secuencias de codificación pueden estar operativamente ligadas a secuencias reguladoras en orientación sentido o antisentido.

35 La expresión "marcador seleccionable" significa un factor identificativo, normalmente un gen de resistencia a antibióticos o productos químicos, que se puede seleccionar basándose en el efecto del gen del marcador, es decir, la resistencia a un antibiótico, en donde el efecto se utiliza para rastrear la herencia de un ácido nucleico de interés y/o para identificar una célula u organismo que ha heredado el ácido nucleico de interés.

40 Como se emplea en esta memoria, la expresión "degeneración de codones" se refiere a la naturaleza del código genético que permite una variación de la secuencia de nucleótidos sin que resulte afectada la secuencia de aminoácidos de una proteína codificada. El técnico experto está al corriente de la "tendencia de codones" presentada por una célula huésped específica en el empleo de codones nucleotídicos para especificar un aminoácido dado. Por lo tanto, cuando se sintetiza un gen para una expresión mejorada en una célula huésped, es deseable diseñar el gen de modo que su frecuencia de empleo de codones se aproxime a la frecuencia del empleo de codones preferido de la célula huésped.

45 La expresión "optimizado en cuanto a codones", cuando se refiere a genes o regiones de codificación de moléculas de ácido nucleico para la transformación de diversos huéspedes, se refiere a la alteración de codones en el gen o las regiones de codificación de las moléculas de ácido nucleico para reflejar el empleo típico de codones del organismo huésped sin que se altere la proteína codificada por el DNA.

El término "lignocelulósico" se refiere a una composición que comprende tanto lignina como celulosa. El material lignocelulósico puede también comprender hemicelulosa.

50 El término "celulósico" se refiere a una composición que comprende celulosa y componentes adicionales, incluyendo hemicelulosa.

El término "sacarificación" se refiere a la producción de azúcares fermentables a partir de polisacáridos.

La expresión "biomasa pretratada" significa biomasa que ha sido sometida a un pretratamiento físico, químico y/o térmico para aumentar la accesibilidad de los polisacáridos en la biomasa antes de la sacarificación.

55 "Biomasa" se refiere a cualquier material celulósico o lignocelulósico e incluye materiales que comprenden celulosa y que además comprenden opcionalmente hemicelulosa, lignina, almidón, oligosacáridos y/o monosacáridos. La biomasa puede comprender también componentes adicionales, tales como proteína y/o lípido. La biomasa puede

- proceder de una sola fuente o la biomasa puede comprender una mezcla procedente de más de una fuente; por ejemplo, la biomasa podría comprender una mezcla de mazorcas de maíz y caña de maíz o una mezcla de hierba y hojas. La biomasa incluye, pero no se limita a, cultivos para bioenergía, residuos agrícolas, desechos sólidos municipales, desechos sólidos industriales, suspensiones procedentes de la fabricación de papel, desechos de jardines, madera y desechos forestales. Los ejemplos de biomasa incluyen, pero no se limitan a, mazorcas de maíz, residuos de cultivos tales como hojas de maíz, caña de maíz, hierbas, paja de trigo, paja de cebada, heno, paja de arroz, pasto varilla, papel de desecho, bagazo de caña de azúcar, sorgo, soja, componentes obtenidos de la molienda de granos, árboles, ramas, raíces, hojas, astillas de madera, serrín, arbustos y matas, vegetales, frutos, flores y estiércol.
- 5
- 10 "Producto de hidrólisis de biomasa" se refiere al producto que resulta de la sacarificación de biomasa. La biomasa puede ser también pretratada o preprocesada antes de la sacarificación.
- La expresión "ruta metabólica de la xilosa" o "ruta de utilización de la xilosa" se refiere a una serie de enzimas (codificadas por genes) que metabolizan la xilosa a través de fructosa-6-fosfato y/o gliceraldehído-6-fosfato e incluye
- 15 1) xilosa isomerasa, que cataliza la conversión de xilosa en xilulosa, 2) xilulocinasa, que fosforila la xilulosa para formar xilulosa-5-fosfato, 3) transcetolasa y 4) transaldolasa.
- La expresión "xilosa isomerasa" se refiere a una enzima que cataliza la interconversión de D-xilosa y D-xilulosa. Las xilosa isomerasas (XI) pertenecen al grupo de enzimas clasificado como EC 5.3.1.5.
- La expresión "ribosa-5-fosfato isomerasa" o "RPI" se refiere a una enzima que cataliza la interconversión de ribulosa-5-fosfato y ribosa-5-fosfato. Las ribosa-5-fosfato isomerasas pertenecen al grupo de enzimas clasificado
- 20 como EC 5.3.1.6.
- La expresión "valor E", como se conoce en el campo de la bioinformática, es el "valor esperado" que proporciona la probabilidad de que se produzca una coincidencia por casualidad. Proporciona la significación estadística de la coincidencia a una secuencia. Cuanto menor es el valor E, más significativo es el resultado.
- La expresión "RPI-A de *Z. mobilis*" se refiere a la RPI de *Z. mobilis* que ha sido etiquetada en la técnica como RPI-A. Sin embargo, la proteína RPI de *Z. mobilis* presenta una identidad secuencial más próxima a la proteína RPI-B de *E. coli* (36%) que a la proteína RPI-A de *E. coli* (20%), y otro análisis de las RPIs descritas en esta memoria sitúa a la RPI de *Z. mobilis* en el grupo RPI-B. Sin embargo, en esta memoria la RPI de *Z. mobilis* es llamada RPI-A para que sea consistente con su nombre públicamente conocido.
- 25
- El término "heterólogo" significa no hallado de forma natural en el lugar de interés. Por ejemplo, un gen heterólogo se refiere a un gen que no se encuentra de forma natural en el organismo huésped sino que se introduce en el organismo huésped por transferencia génica. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico heteróloga que está presente en un gen quimérico es una molécula de ácido nucleico que no se halla asociada de forma natural con los otros segmentos del gen quimérico, tal como las moléculas de ácido nucleico que tienen los segmentos de región codificadora y promotor no asociados de forma natural entre sí.
- 30
- 35 Como se emplea en esta memoria, una "molécula de ácido nucleico aislada" es un polímero de RNA o DNA que tiene cadena sencilla o doble, que contiene opcionalmente bases nucleotídicas sintéticas, artificiales o alteradas. Una molécula de ácido nucleico aislada en forma de un polímero de DNA puede estar compuesta de uno o más segmentos de cDNA, DNA genómico o DNA sintético.
- Un fragmento de ácido nucleico es "hibridable" con otro fragmento de ácido nucleico, tal como un cDNA, DNA genómico o molécula de RNA, cuando una forma de cadena sencilla del fragmento de ácido nucleico se puede hibridar por extremos complementarios con el otro fragmento de ácido nucleico bajo las apropiadas condiciones de temperatura y fuerza iónica de la disolución. Las condiciones de hibridación y lavado son bien conocidas y son ejemplificadas en J. Sambrook, E. F. Fritsch y T. Maniatis, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York (1989), particularmente en su Capítulo 11 y su Tabla
- 40 11.1. Las condiciones de temperatura y fuerza iónica determinan el "rigor" de la hibridación. Las condiciones de rigor pueden ser ajustadas para explorar desde fragmentos moderadamente similares (tales como secuencias homólogas de organismos poco relacionados), hasta fragmentos muy similares (tales como genes que duplican enzimas funcionales de organismos íntimamente relacionados). Los lavados después de la hibridación determinan las condiciones de rigor. En un conjunto de condiciones preferidas se emplea una serie de lavados que comienza con SSC 6X, SDS al 0,5%, a temperatura ambiental durante 15 minutos, se repite luego con SSC 2X, SDS al 0,5%, a 45 °C durante 30 minutos, y luego se repite dos veces con SSC 0,2X, SDS al 0,5%, a 50° durante 30 minutos. En un conjunto más preferido de condiciones rigurosas se emplean temperaturas más elevadas, siendo los lavados idénticos a los anteriores salvo por que se aumenta a 60 °C la temperatura de los dos lavados finales de 30 minutos
- 45 en SSC 0,2X, SDS al 0,5%. En otro conjunto preferido de condiciones muy rigurosas se emplean dos lavados finales en SSC 0,1X, SDS al 0,1%, a 65 °C. Un conjunto adicional de condiciones rigurosas incluye, por ejemplo, la hibridación en SSC 0,1X, SDS al 0,1%, 65 °C, y lavados con SSC 2X, SDS al 0,1%, seguidos de SSC 0,1X, SDS al
- 50 0,1%.
- 55

La hibridación requiere que los dos ácidos nucleicos contengan secuencias complementarias aunque, dependiendo del rigor de la hibridación, son posibles discordancias entre bases. El rigor apropiado para hibridar ácidos nucleicos depende de la longitud de los ácidos nucleicos y del grado de complementación, variables bien conocidas en la técnica. Cuanto mayor es el grado de similitud u homología entre dos secuencias de nucleótidos, mayor es el valor de Tm para los híbridos de ácidos nucleicos que tienen esas secuencias. La estabilidad relativa (que corresponde a una Tm mayor) de las hibridaciones de ácidos nucleicos disminuye en el orden siguiente: RNA:RNA, DNA:RNA, DNA:DNA. Para híbridos de más de 100 nucleótidos de longitud se han obtenido ecuaciones para calcular la Tm (véase Sambrook et al., *supra*, 9.50-9.51). Para hibridaciones con ácidos nucleicos más cortos, es decir, oligonucleótidos, la posición de las discordancias se vuelve más importante y la longitud del oligonucleótido determina su especificidad (véase Sambrook et al., *supra*, 11.7-11.8). En una realización, la longitud para un ácido nucleico hibridable es al menos aproximadamente 10 nucleótidos. Preferiblemente, una longitud mínima para un ácido nucleico hibridable es al menos aproximadamente 15 nucleótidos, más preferiblemente al menos aproximadamente 20 nucleótidos y, lo más preferiblemente, la longitud es al menos aproximadamente 30 nucleótidos. Además, el técnico experto reconocerá que la temperatura y la concentración de sales de la disolución de lavado se pueden ajustar según sea necesario de acuerdo con factores tales como la longitud de la sonda. El término "complementario" se utiliza para describir la relación entre bases nucleotídicas que son capaces de hibridarse entre sí. Por ejemplo, con respecto al DNA, la adenosina es complementaria de la timina, y la citosina es complementaria de la guanina.

El término "homólogo" se refiere a fragmentos de ácido nucleico en los que cambios en una o más bases nucleotídicas no afectan a la capacidad del fragmento de ácido nucleico para mediar en la expresión génica o producir un cierto fenotipo. El término también se refiere a modificaciones de los fragmentos de ácido nucleico de la presente invención, tales como supresión o inserción de uno o más nucleótidos, que no alteran sustancialmente las propiedades funcionales del fragmento de ácido nucleico resultante con respecto al fragmento inicial, no modificado. Por lo tanto, se entiende que, como apreciarán los expertos en la técnica, la invención abarca más que las secuencias ejemplares específicas.

Además, el técnico experto reconoce que secuencias de ácido nucleico homólogas abarcadas por esta invención también son definidas por su capacidad para hibridarse, bajo condiciones moderadamente rigurosas (por ejemplo, SSC 0,5X, SDS al 0,1%, 60 °C), con las secuencias ejemplificadas en esta memoria o con cualquier porción de las secuencias de nucleótidos descritas en esta memoria y que son funcionalmente equivalentes a cualesquiera de las secuencias de ácido nucleico descritas en esta memoria.

La expresión "porcentaje de identidad", como se conoce en la técnica, es una relación entre dos o más secuencias polipeptídicas o dos o más secuencias polinucleotídicas según se determina al comparar las secuencias. En la técnica, "identidad" también significa el grado de parentesco secuencial entre secuencias polipeptídicas o polinucleotídicas, según sea el caso, como se determina por la coincidencia entre cadenas de tales secuencias. La "identidad" y la "similitud" pueden ser fácilmente calculadas mediante métodos conocidos que incluyen, pero no se limitan a, los descritos en 1.) Computational Molecular Biology (redactado por A. M. Lesk), Oxford University: New York (1988); 2.) Biocomputing: Informatics and Genome Projects (redactado por D. W. Smith), Academic: New York (1993); 3.) Computer Analysis of Sequence Data, Parte I (redactado por A. M. Griffin y H. G. Griffin), Humana: New Jersey (1994); 4.) Sequence Analysis in Molecular Biology (redactado por G. von Heinje), Academic (1987); y 5.) Sequence Analysis Primer (redactado por M. Gribskov y J. Devereux), Stockton: New York (1991).

Los métodos preferidos para determinar la identidad se diseñan para obtener la mejor coincidencia entre las secuencias examinadas. Los métodos para determinar la identidad y la similitud están codificados en programas informáticos públicamente disponibles. Los alineamientos de secuencias y los cálculos del porcentaje de identidad pueden ser llevados a cabo usando el programa MegAlign™ de la serie LASERGENE de programas bioinformáticos (DNASTAR Inc., Madison, Wisconsin). Se lleva a cabo el alineamiento múltiple de las secuencias usando el "método Clustal de alineamiento" que abarca diversas variedades del algoritmo, incluyendo el "método Clustal V de alineamiento" que corresponde al método de alineamiento etiquetado Clustal V [descrito por Higgins y Sharp, CABIOS 5: 151-153 (1989); D. G. Higgins et al., Comput. Appl. Biosci. 8: 189-191 (1992)] y hallado en el programa MegAlign™ de la serie LASERGENE de programas bioinformáticos (DNASTAR Inc.). Para alineamientos múltiples, los valores por omisión corresponden a una PENALIZACIÓN POR HUECO = 10 y una PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 10. Los parámetros por omisión para alineamientos por pares y cálculo del porcentaje de identidad de las secuencias proteicas usando el método Clustal son KTUPLE = 1, PENALIZACIÓN POR HUECO = 3, VENTANA = 5 y DIAGONALES GUARDADAS = 5. Para ácidos nucleicos, estos parámetros son KTUPLE = 2, PENALIZACIÓN POR HUECO = 5, VENTANA = 4 y DIAGONALES GUARDADAS = 4. Después del alineamiento de las secuencias usando el programa Clustal V, es posible obtener un "porcentaje de identidad" observando la tabla de "distancias de secuencias" en el mismo programa. Además, el "método Clustal W de alineamiento" está disponible y corresponde al método de alineamiento etiquetado Clustal W [descrito por Higgins y Sharp, CABIOS 5: 151-153 (1989); D. G. Higgins et al., Comput. Appl. Biosci. 8: 189-191 (1992)] y hallado en el programa MegAlign™ v6.1 de la serie LASERGENE de programas bioinformáticos (DNASTAR Inc.). Los parámetros por omisión para el alineamiento múltiple son PENALIZACIÓN POR HUECO = 10, PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 0,2, Retraso de secuencias divergentes (%) = 30, Peso de las transiciones para DNA = 0,5, Matriz ponderada para proteínas = serie Gonnet, matriz ponderada para DNA = IUB. Después del alineamiento de las secuencias usando el programa

Clustal W, es posible obtener "un porcentaje de identidad" observando la tabla de "distancias de secuencias" en el mismo programa.

Un experto en la técnica entenderá bien que muchos niveles de identidad secuencial son útiles para identificar polipéptidos de otras especies, en donde dichos polipéptidos tienen una función o actividad igual o similar. Los ejemplos útiles de porcentajes de identidad incluyen, pero no se limitan a, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95%; o cualquier número entero porcentual de 25% a 100% puede ser útil para describir la presente invención, tal como 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%. Los fragmentos de ácido nucleico adecuados no sólo tienen las anteriores homologías sino que codifican típicamente un polipéptido que tiene al menos 50 aminoácidos, preferiblemente al menos 100 aminoácidos, y más preferiblemente al menos 150 aminoácidos.

La expresión "software para análisis de secuencias" se refiere a cualquier algoritmo o programa informático que es útil para el análisis de secuencias de nucleótidos o aminoácidos. El "software para análisis de secuencias" puede estar comercialmente disponible o ser independientemente desarrollado. El software para análisis de secuencias típico incluirá, pero no se limitará a: 1.) la serie GCG de programas [Wisconsin Package Version 9.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin]; 2.) BLASTP, BLASTN, BLASTX [Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990)]; 3.) DNASTAR (DNASTAR, Inc., Madison, Wisconsin); 4.) Sequencher (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, Michigan); y 5.) el programa FASTA que lleva incorporado el algoritmo de Smith-Waterman {W. R. Pearson, Comput. Methods Genome Res., [Proc. Int. Symp.] (1994), Meeting Date 1992, 111-20, redactado por Sandor Suhai, Plenum: New York, EE.UU.}. Dentro del contexto de esta solicitud se entenderá que, donde se utilice el software para análisis de secuencias para el análisis, los resultados del análisis se basarán en los "valores por omisión" del programa al que se hace referencia, a menos que se especifique otra cosa. Como se emplean en esta memoria, los "valores por omisión" significarán cualquier conjunto de valores o parámetros que se cargan originalmente con el software cuando se inicializa éste por vez primera.

Las técnicas de DNA recombinante y clonación molecular estándares empleadas en esta memoria son bien conocidas en este campo técnico y descritas por J. Sambrook, E. F. Fritsch y T. Maniatis, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 2ª edición; Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, New York, 1989 (en lo sucesivo "Maniatis"); y por T. J. Silhavy, M. L. Bannan y L. W. Enquist, "Experiments with Gene Fusions"; Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, New York, 1984; y por F. M. Ausubel et al. en "Current Protocols in Molecular Biology", publicado por Greene Publishing and Wiley-Interscience, 1987.

La presente invención se refiere a cepas modificadas de *Zymomonas* o *Zymobacter* que utilizan xilosa, que presentan una utilización mejorada de xilosa cuando fermentan en medios que contienen xilosa. Un reto para mejorar la producción de etanol por fermentación de un biocatalizador en un medio que incluye un producto de hidrólisis de biomasa, típicamente producido por pretratamiento y sacarificación de biomasa, es obtener una utilización óptima de la xilosa. La xilosa es uno de los azúcares pentosa predominantes en los materiales lignocelulósicos hidrolizados, siendo arabinosa el otro. Los solicitantes han descubierto que una expresión aumentada de la ribosa-5-fosfato isomerasa en cepas que utilizan xilosa conduce a una eficacia aumentada en la utilización de xilosa y, por lo tanto, a mayores producciones de etanol cuando la fermentación es en medios que contienen xilosa.

Descubrimiento de ineficacia en la utilización de xilosa

La modificación de bacterias etanologénicas en cuanto a la utilización de xilosa incluye típicamente la expresión de cuatro proteínas: xilosa isomerasa, xilulocinasa, transcetolasa y transaldolasa. Estas enzimas proporcionan una ruta de utilización de xilosa que conduce a la producción de etanol, como se muestra en la Figura 1. Sin embargo, la utilización de xilosa por cepas de *Zymomonas* modificadas para que metabolicen xilosa no es típicamente eficaz.

Los solicitantes han descubierto una posible causa de la ineficacia en la utilización de xilosa: un metabolito de la ruta de utilización de la xilosa que podría ser utilizado para producir etanol es desviado a un subproducto. Específicamente, los solicitantes han descubierto que con cepas de *Zymomonas* que utilizan xilosa y son capaces de crecer en xilosa como única fuente de carbono se acumula ribulosa (D-ribulosa) en el medio cuando son cultivadas en un medio que sólo contiene xilosa como fuente de carbono. La ribulosa acumulada en el medio puede representar aproximadamente el 8% de la xilosa total consumida. Esta acumulación de ribulosa no se produce cuando la misma bacteria *Zymomonas* que utiliza xilosa es cultivada en un medio que contiene glucosa y no xilosa.

Se puede producir ribulosa por conversión de ribulosa-5-fosfato en ribulosa por una fosfatasa. Si se acumula ribulosa-5-fosfato en una célula, puede proporcionar un sustrato para fosfatasas celulares. La conversión de ribulosa-5-fosfato en ribulosa y la acumulación de ribulosa en el medio indican una deficiencia enzimática en la ruta responsable de metabolizar xilosa hasta etanol. Las condiciones bajo las cuales resulta aumentada la etapa inicial del metabolismo de la xilosa, catalizada por xilosa isomerasa, pueden actuar para intensificar esta deficiencia, lo que conduce a niveles aún mayores de acumulación de ribulosa-5-fosfato y ribulosa. Además, la acumulación de

ribulosa-5-fosfato puede ser tan grande que ésta llegue a ser bacteriostática o incluso letal, ya que se sabe que la acumulación de azúcar-fosfato en células bacterianas es perjudicial para su metabolismo y su viabilidad. Por lo tanto, mediante el descubrimiento de ribulosa en el medio y el reconocimiento de las posibles implicaciones de este hallazgo por los solicitantes, los solicitantes han identificado un problema a resolver que puede afectar a la utilización de xilosa. La reducción de la producción de ribulosa y la mejora de la utilización de ribulosa-5-fosfato en las rutas del metabolismo de la xilosa y de la producción de etanol, como se muestra en la Figura 1, pueden mejorar la producción de etanol a partir de xilosa.

Aumento de la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa

Los solicitantes han descubierto que un aumento de la expresión de ribosa-5-fosfato isomerasa (RPI) en bacterias *Z. mobilis* que utilizan xilosa y acumulan ribulosa cuando se cultivan en un medio que contiene xilosa conduce a una acumulación reducida de ribulosa. La acumulación reducida de ribulosa puede estar relacionada con una acumulación reducida de ribulosa-5-fosfato, como se describió anteriormente. Las cepas con expresión aumentada de RPI mostraban un crecimiento mejorado, una utilización aumentada de xilosa y una producción aumentada de etanol cuando se cultivaban en un medio que contenía xilosa en comparación con las mismas cepas que carecían de la expresión aumentada de RPI. La RPI cataliza la interconversión de ribulosa-5-fosfato y ribosa-5-fosfato (véase la Figura 1).

Un aumento de la expresión de la enzima RPI-A de *Z. mobilis* (que en realidad es una enzima RPI-B según se determina en esta memoria y se describe más adelante) en una cepa de *Z. mobilis* que utiliza xilosa y produce ribulosa cuando se cultiva en un medio que contiene xilosa condujo a una reducción de casi el 50% en la acumulación de ribulosa en el medio en comparación con la misma cepa sin la expresión aumentada de RPI. Además, las cepas con expresión aumentada de RPI mostraban una producción aumentada de masa celular, un consumo aumentado de xilosa y un título aumentado de etanol, lo que indica una conversión aumentada de xilosa en etanol. La expresión aumentada de la enzima RPI-A de *E. coli* en la misma cepa de *Z. mobilis* que produce ribulosa también condujo a la producción de una masa celular aumentada. Los aumentos de masa celular, consumo de xilosa y producción de etanol variarán dependiendo de factores tales como la cepa de partida que utiliza xilosa, la composición de los medios y el nivel de expresión de RPI. La masa celular aumentada puede ser aproximadamente 15% o más después de 60 horas de crecimiento en un medio que contiene 100 g/l de xilosa como único azúcar, y el aumento de producción de etanol puede ser al menos aproximadamente 5% al utilizar las cepas presentes en las condiciones descritas en los Ejemplos de esta memoria.

La expresión aumentada de RPI se puede llevar a cabo usando cualquier proteína o polipéptido con actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en *Zymomonas*. Hay dos grupos de enzimas ribosa-5-fosfato isomerasas, que son denominados RPI-A y RPI-B. Las enzimas RPI-B pertenecen a la familia RpiB/LacA/LacB de azúcar-fosfato isomerasas. La bacteria *E. coli* tiene dos proteínas RPI; una es una RPI-A y la otra es una RPI-B. La bacteria *Z. mobilis* tiene una sola proteína RPI que es indicada como RPI-A. Sin embargo, la proteína RPI de *Z. mobilis* presenta una identidad secuencial más próxima a la proteína RPI-B de *E. coli* (36%) que a la proteína RPI-A de *E. coli* (20%). Otro análisis de RPIs descrito más adelante coloca a la RPI de *Z. mobilis* en el grupo RPI-B. Sin embargo, la RPI de *Z. mobilis* es llamada RPI-A para que sea consistente con su nombre públicamente conocido.

Las secuencias de proteínas RPI que se pueden emplear en los microorganismos presentes son muy diversas, como se ejemplifica por las proteínas RPI de *Z. mobilis* y *E. coli*. Las proteínas RPI que se pueden emplear en los microorganismos presentes pueden ser identificadas usando un análisis bioinformático. Un planteamiento bioinformático de estructura/función utilizado en esta memoria en el Ejemplo 8 es el análisis basado en un perfil de modelado oculto de Markov, una identificación de restos de sitio activo y una exploración adicional de aminoácidos identificativos.

Se construyeron perfiles de modelos ocultos de Markov (HMM; del inglés, Hidden Markov Models) usando el algoritmo `hmmsearch` del paquete informático HMMER (Janelia Farm Research Campus, Ashburn, Virginia, EE.UU.). La teoría tras los perfiles HMM se describe en Durbin et al. ["Biological sequence analysis: probabilistic models of proteins and nucleic acids" (1998), Cambridge University Press] y Krogh et al. [J. Mol. Biol. 235 (1994): 1501-1531], que permite caracterizar un conjunto de proteínas basándose en la probabilidad de que cada aminoácido se encuentre en cada posición en el alineamiento de las proteínas del conjunto.

Como secuencias semilla para preparar perfiles HMM para RPI-A y RPI-B se usaron proteínas con identificación funcional como la citada en las bases de datos BRENDA (Cologne University Bioinformatics Center) y PubMed (US National Library of Medicine, National Institutes of Health), 15 para RPI-A (Tabla 2; ID. SEC. números 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96 y 97) y 5 para RPI-B (Tabla 3; ID. SEC. números 1213, 1214, 1215, 1216 y 1217). BRENDA es una base de datos de anotación humana que contiene información detallada acerca de propiedades cinéticas, físicas y bioquímicas de enzimas, extraídas de la bibliografía experimental y con vínculos a las bases de datos relevantes. Usando cada conjunto de secuencias semillas se construyó un alineamiento múltiple de secuencias (MSA; del inglés, multiple sequences alignment) usando Clustal W con los parámetros por omisión. Los resultados del MSA se usaron como datos de entrada para preparar los perfiles HMM que se proporcionan en las Tablas 4 y 5 para proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa A y proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa B, respectivamente. En las tablas, los aminoácidos se representan mediante el código de una letra. La primera línea

para cada posición presenta las puntuaciones de emisión de coincidencia: la probabilidad de que cada aminoácido esté en ese estado (se resalta la puntuación más elevada). La segunda línea presenta las puntuaciones de emisión de inserción, y la tercera línea presenta las puntuaciones de transición de estado: M→M, M→I, M→D; I→M, I→I; D→M, D→D; B→M; M→E.

5 Además de los perfiles HMM, se utilizaron los restos de sitio activo conocidos para enzimas RPI-A y RPI-B [Roos et al. (2004), J. Mol. Biol. 335: 799-809; Graile et al. (2005), Biochimie 87: 763-769], y un aminoácido que distingue a LacB, para identificar proteínas RPI-A y RPI-B que se pueden utilizar en los microorganismos presentes. Las proteínas RPI-A que se pueden utilizar son proteínas que i) proporcionan una puntuación del valor E de 0,1 o menos cuando se hace la búsqueda empleando un perfil de modelo oculto de Markov preparado usando las ID. SEC. números 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96 y 97; llevándose a cabo la búsqueda utilizando el algoritmo hmmsearch en el que se ajusta el parámetro Z a 1000 millones, y ii) tienen ácido aspártico y ácido glutámico en las posiciones que corresponden a 107 y 129, respectivamente, en la proteína RPI-A de *Saccharomyces cerevisiae* (ID. SEC. n° 97). Las proteínas RPI-B que se pueden utilizar son proteínas que i) proporcionan una puntuación del valor E de 0,1 o menos cuando se hace la búsqueda empleando un perfil de modelo oculto de Markov preparado usando las ID. SEC. números 1213, 1214, 1215, 1216 y 1217; llevándose a cabo la búsqueda utilizando el algoritmo hmmsearch en el que se ajusta el parámetro Z a 1000 millones, ii) o bien tienen cisteína y treonina en las posiciones que corresponden a 66 y 68, respectivamente, en la proteína RPI-B de *E. coli* (ID. SEC. n° 1216), o bien tienen serina y ácido glutámico en las posiciones que corresponden a 68 y 72, respectivamente, en la proteína RPI-B de *M. tuberculosis* (ID. SEC. n° 1213), y iii) tienen asparagina, glicocola, ácido aspártico, serina o ácido glutámico, pero no leucina, en la posición que corresponde a 100 en la proteína RPI-B de *E. coli* (ID. SEC. n° 1216).

Los ejemplos de proteínas RPI-A y RPI-B que encajan en los criterios anteriores y que se pueden utilizar en los microorganismos presentes son, para RPI-A: ID. SEC. números 83 a 1212 y para RPI-B: ID. SEC. números 1213 a 2107. Estas proteínas, así como cualquier proteína con una identidad secuencial de al menos aproximadamente 80-85%, 85%-90%, 90%-95% o al menos aproximadamente 96%, 97%, 98% o 99% con respecto a cualquiera de estas secuencias y que tenga actividad ribosa-5-fosfato isomerasa, se pueden utilizar en las células presentes. Los ejemplos de secuencias que codifican proteínas RPI-A incluyen las ID. SEC. números 2108 a 3237. Los ejemplos de secuencias que codifican proteínas RPI-B incluyen las ID. SEC. números 3238 a 4132. Se pueden identificar fácilmente RPis adicionales en la bibliografía y en bases de datos bioinformáticas, como es bien sabido por la persona experta y como se describió anteriormente. La identificación de secuencias proteicas y/o codificadoras utilizando la bioinformática es típicamente a través de una búsqueda BLAST (anteriormente descrita) en bases de datos públicamente disponibles con secuencias de aminoácidos o secuencias de codificación de RPI, tales como las proporcionadas en esta memoria. Las identidades se basan en el método Clustal W de alineamiento usando los parámetros por omisión de PENALIZACIÓN POR HUECO = 10, PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 0,1, y serie Gonnet 250 de matriz ponderada para proteínas.

Además, las secuencias descritas en esta memoria o las citadas en la técnica pueden ser utilizadas para identificar otros compuestos homólogos en la naturaleza. Por ejemplo, cada uno de los fragmentos de ácido nucleico que codifican RPI descritos en esta memoria puede ser utilizado para aislar secuencias de DNA que codifican proteínas homólogas. El aislamiento de secuencias homólogas usando protocolos dependientes de secuencias es bien conocido en la técnica. Los ejemplos de protocolos dependientes de secuencias incluyen, pero no se limitan a: 1) métodos de hibridación de ácido nucleico; 2) métodos de multiplicación de DNA y RNA, como se ejemplifica mediante los usos diversos de tecnologías de multiplicación de ácido nucleico [por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; del inglés, polymerase chain reaction), Mullis et al., Patente de EE.UU. n° 4.683.202; la reacción en cadena de la ligasa (LCR; del inglés, ligase chain reaction), S. Tabor et al., Proc. Acad. Sci. USA 82: 1074 (1985); o la multiplicación con desplazamiento de cadena (SDA; del inglés, strand displacement amplification), Walker et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 89: 392 (1992)]; y 3) métodos de construcción y exploración de bancos por complementación.

Cepa huésped que utiliza xilosa

Se puede aumentar la expresión de RPI en cualquier cepa de *Zymomonas* u otra bacteria etanológica, tal como *Zymobacter*, que sea capaz de utilizar xilosa como una fuente de carbono. *Zymobacter palmae* es una bacteria productora de etanol que ha sido modificada en cuanto a la utilización de xilosa mediante la expresión de genes para la utilización de xilosa, como se describe más adelante para *Zymomonas*, usando promotores de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y enolasa de *Z. mobilis* [Yanase et al., Applied and Environmental Microbiology (2007) 73: 2592-2599]. Además, la bacteria etanológica acumula ribulosa-5-fosfato o ribulosa cuando se cultiva en un medio que contiene xilosa y no se aumenta la expresión de RPI.

Se han modificado cepas de *Zymomonas*, tal como *Z. mobilis*, para la fermentación de xilosa hasta etanol. Típicamente, se han introducido cuatro genes en *Z. mobilis* para la expresión de cuatro enzimas implicadas en el metabolismo de la xilosa (Figura 1), como se describe en la Patente de EE.UU. n° 5514583, la Patente de EE.UU. n° 5712133, la Patente de EE.UU. n° 6566107, el Documento WO 95/28476, Feldmann et al. [Appl. Microbiol. Biotechnol. (1992) 38: 354-361], y Zhang et al. [Science 267 (1995): 240-243]. Dichos genes incluyen genes que

5 codifican xilosa isomerasa, que cataliza la conversión de xilosa en xilulosa, y xilulocinasa, que fosforila la xilulosa para formar xilulosa-5-fosfato. Se expresan además transcetolasa y transaldolasa, dos enzimas de la ruta de las pentosas-fosfato que convierten la xilulosa-5-fosfato en productos intermedios que conectan el metabolismo de las pentosas con la ruta glicolítica de Entner-Doudoroff permitiendo el metabolismo de la xilosa hasta etanol (véase la Figura 1). Las secuencias de DNA que codifican estas enzimas se pueden obtener de cualquiera de los numerosos microorganismos que son capaces de metabolizar la xilosa, tales como bacterias entéricas y algunas levaduras y hongos. Las fuentes para las regiones de codificación pueden incluir *Xanthomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Rhodobacter*, *Flavobacterium*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Salmonella*, *Pseudomonas* y *Zymomonas*. Se emplean típicamente las regiones de codificación de *E. coli*.

10 Genes endógenos pueden proporcionar parte de una ruta de fermentación de la xilosa o pueden ser alterados mediante cualquier técnica de manipulación genética conocida para proporcionar una proteína con actividad enzimática útil para el metabolismo de la xilosa. Por ejemplo, en la creación de una ruta de utilización de la xilosa la transcetolasa endógena puede complementar otras actividades enzimáticas introducidas.

15 En el presente proceso también se pueden emplear cepas de *Zymomonas* o *Zymobacter* que son adicionalmente modificadas para que utilicen otros azúcares que, como la xilosa, no son sustratos naturales. Un ejemplo es una cepa de *Z. mobilis* modificada en cuanto a la utilización de arabinosa, como se describe en el Documento US 5843760. Se pueden modificar cepas de otros modos adicionales para mejorar la utilización de xilosa y la producción de etanol.

Expresión aumentada de RPI

20 En el presente microorganismo se realiza una modificación genética que aumenta la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en comparación con la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en el microorganismo que carece de la modificación genética. Se puede obtener una expresión aumentada de actividad RPI haciendo que se exprese una molécula de DNA que codifica una proteína que tiene actividad ribosa-5-fosfato isomerasa y que es activa en el microorganismo huésped. Se describieron anteriormente proteínas útiles con actividad ribosa-5-fosfato isomerasa, incluyendo proteínas ribosa-5-fosfato isomerasa A y ribosa-5-fosfato isomerasa B.

25 Para aumentar la actividad RPI se puede utilizar cualquier método para aumentar la actividad de una enzima en un microorganismo. Dichos métodos son bien conocidos por un experto en la técnica e incluyen aumentar el número de copias del gen de codificación y/o la expresión de un gen que contiene un promotor de alta expresión. Las cepas presentes pueden ser modificadas para una expresión aumentada de una región de codificación endógena de RPI, y/o la expresión de una región de codificación heteróloga introducida de RPI para obtener una actividad enzimática aumentada. Además, la actividad RPI puede ser aumentada por mutación y exploración de genes mutados expresados, para identificar microorganismos con actividad aumentada.

30 Típicamente, se alcanza una expresión aumentada de RPI al transformar con una molécula de DNA que codifica RPI, que está operativamente ligada a un promotor en un gen u operón quimérico. Las secuencias de codificación de RPIs que se pueden utilizar incluyen cualesquier secuencias que codifiquen las proteínas RPI-A y RPI-B anteriormente descritas. Los ejemplos de estas secuencias de codificación incluyen, para RPI-A: las ID. SEC. números 2108 a 3237, y para RPI-B: las ID. SEC. números 3238 a 4132.

35 Cuando se utiliza una región de codificación heteróloga, la secuencia puede estar optimizada en cuanto a codones para una expresión máxima en la célula huésped diana, como es bien sabido por un experto en la técnica. Si el codón de inicio nativo es GTG, puede ser cambiado por ATG para una expresión proteica aumentada. Los métodos para expresión génica en bacterias son bien conocidos en la técnica. La expresión de genes en bacterias requiere típicamente un promotor, operativamente ligado a una región de codificación de interés, y un terminador de la transcripción. Los promotores que se pueden emplear son promotores que se expresan en células de *Zymomonas* o *Zymobacter*, tales como los promotores del gen de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (promotor GAP; P_{gap}) de *Z. mobilis*, del gen de enolasa (promotor ENO; P_{eno}) de *Z. mobilis* y del gen que codifica xilosa isomerasa (promotor GI; P_{gi}) de *Actinoplanes missouriensis*. Particularmente, los promotores de alta expresión que se pueden utilizar son los promotores P_{gap} con mutaciones que causan una elevada expresión, como se describe en la Publicación de Patente de EE.UU. n° 2009-0246876 A1. Los promotores P_{gap} de dicha publicación tienen una sustitución de base en una posición seleccionada del grupo que consiste en la posición -190, la posición -89 o ambas posiciones, -190 y -89; en donde los números de posición son con respecto al codón de iniciación de la traducción ATG natural para la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa en las cepas CP4 y ZM4 de *Z. mobilis*. Específicamente, la sustitución de base es una T que sustituye a una G en la posición -190 y una T que sustituye a una C en la posición -89. Estas posiciones son las 116 y 217, respectivamente, en la ID. SEC. n° 17.

40 Un gen u operón quimérico para la expresión de RPI es típicamente construido en, o transferido a, un vector para otras manipulaciones. Los vectores son bien conocidos en la técnica. Ciertos vectores son capaces de replicarse en una gran variedad de bacterias huésped y pueden ser transferidos por conjugación. Se dispone de la secuencia completa y anotada de pRK404 y tres vectores relacionados: pRK437, pRK442 y pRK442(H). Se ha demostrado que estos derivados son herramientas valiosas para la manipulación genética en bacterias Gram negativas [Scott et al., Plasmid 50 (1): 74-79 (2003)].

Los vectores que se pueden replicar tanto en *E. coli* como en *Zymomonas*, tal como pZB188 que se describe en la Patente de EE.UU. nº 5.514.583, son particularmente útiles para la expresión en *Zymomonas*. Los vectores pueden incluir plásmidos para replicación autónoma en una célula, y plásmidos para portar construcciones que se van a integrar en genomas bacterianos. Los plásmidos para integración de DNA pueden incluir transposones, regiones de secuencia de ácido nucleico homólogas al genoma bacteriano diana, u otras secuencias que soportan la integración. Un tipo adicional de vector puede ser un transposoma producido al utilizar, por ejemplo, un sistema que es comercialmente asequible de EPICENTRE®. Es bien sabido cómo escoger un vector apropiado para el huésped diana deseado y la función deseada.

Se pueden modificar células bacterianas introduciendo un vector que tiene un gen quimérico que comprende una región de codificación de RPI por métodos bien conocidos, tal como utilizando transformación por congelación-descongelación, transformación mediada por calcio, electroporación o conjugación. Cualquier célula bacteriana que se va a modificar para su transformación mejorada de xilosa aumentando la expresión de una enzima RPI es una célula huésped diana para su transformación con objeto de obtener una cepa como la descrita en esta memoria. Son células huésped particularmente adecuadas las de *Zymomonas* y *Zymobacter*. El gen quimérico introducido se puede mantener en la célula sobre un plásmido que se replica establemente o se puede integrar en el genoma después de la introducción.

Para modificar una cepa con un gen u operón quimérico de RPI integrado en el genoma de la célula bacteriana se pueden utilizar métodos que son bien conocidos en la técnica, tales como recombinación homóloga, inserción de transposones e inserción de transposomas. En la recombinación homóloga, secuencias de DNA que flanquean un sitio de integración diana están situadas junto a un gen de resistencia a espectinomicina, u otro marcador seleccionable, y un gen quimérico Rpi, lo que conduce a la inserción del marcador seleccionable y el gen quimérico Rpi en el sitio genómico diana. Además, el marcador seleccionable puede lindar con sitios de recombinación específicos del sitio, de manera que, después de la expresión de la correspondiente recombinasa específica del sitio, se escinda el gen de resistencia del genoma.

Además, el promotor del gen endógeno que expresa RPI puede ser sustituido por un promotor mucho más expresado para que aumente la actividad RPI en la célula. Esto se puede llevar a cabo por recombinación homóloga usando vectores y métodos como los anteriormente descritos.

Combinación de xilosa isomerasa y expresión de RPI aumentadas

Los presentes microorganismos pueden ser modificados para que presenten una expresión aumentada de xilosa isomerasa. La presencia de una actividad RPI aumentada en las células, junto con una expresión más aumentada de xilosa isomerasa, conducen a una producción más aumentada de etanol. Por ejemplo, la producción de etanol puede ser aumentada en al menos aproximadamente 10%, 15%, 20% o 25% dependiendo de factores tales como la cepa específica, la composición de los medios y las condiciones de crecimiento.

En las células presentes, se puede obtener una expresión aumentada de actividad xilosa isomerasa haciendo que se exprese un gen que codifica una enzima xilosa isomerasa que es activa en la célula huésped, usando cualquier método conocido en la técnica como el anteriormente descrito para la expresión de RPI. En la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. US 2009-0246846 A1, en propiedad común y tramitación con la presente, se describen enzimas útiles con actividad xilosa isomerasa. Como se describe en dicha publicación, se pueden identificar xilosa isomerasas usando un perfil HMM (anteriormente descrito para RPI) preparado en dicha publicación usando 32 secuencias de proteína xilosa isomerasa con una función experimentalmente verificada según se cita en la base de datos BRENDA. Estas proteínas se enumeran en la Tabla 1 y tienen las ID. SEC. números 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79 y 81. En la Tabla 3 se proporciona el perfil HMM para la familia xilosa isomerasa de proteínas. Además del perfil HMM, se halló que cuatro aminoácidos de sitio catalítico eran característicos de las xilosa isomerasas: la histidina 54, el ácido aspártico 57, el ácido glutámico 181 y la lisina 183, con los números de posición relativos a la secuencia de xilosa isomerasa de *Streptomyces albus* (ID. SEC. nº 61). Cualquier proteína que encaje en el perfil HMM de xilosa isomerasa con una puntuación del valor $E < 3 \times 10^{-10}$ y que tenga estos cuatro restos de sitio catalítico es una xilosa isomerasa cuya región de codificación puede ser utilizada para aumentar la actividad xilosa isomerasa en las células presentes, además de las proteínas con los números de ID. SEC. expuestos en la Tabla 1. Las ID. SEC. números 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78 y 80, como se exponen en la Tabla 1, son ejemplos de regiones de codificación que se pueden utilizar para expresar proteínas xilosa isomerasas.

Como es sabido en la técnica, puede haber variaciones en las secuencias de DNA que codifican una secuencia de aminoácidos a causa de la degeneración del código genético. Se pueden optimizar los codones para la expresión de una secuencia de aminoácidos en una célula huésped diana con objeto de obtener una expresión codificada óptima.

Fermentación de una cepa con utilización mejorada de xilosa

Los presentes microorganismos modificados con actividad RPI aumentada pueden ser utilizados en una fermentación para producir etanol. Como un ejemplo, se describe la producción de etanol por una cepa de *Z. mobilis*

de la invención.

Para la producción de etanol, se pone una bacteria *Z. mobilis* recombinante que utiliza xilosa y tiene una actividad RPI aumentada en contacto con un medio que contiene xilosa. La xilosa puede ser el único azúcar pero, típicamente, el medio contiene una mezcla de azúcares que incluye xilosa y glucosa. El medio puede contener un producto de hidrólisis de biomasa que incluye estos azúcares que proceden de una biomasa celulósica o lignocelulósica tratada.

Cuando la concentración de azúcares mixtos es tan alta que se inhibe el crecimiento, el medio incluye sorbitol, manitol o una mezcla de los mismos, como se describe en el Documento US 7629156 B2 en propiedad común. El galactitol o el ribitol pueden sustituir a, o combinarse con, el sorbitol o el manitol. La bacteria *Z. mobilis* crece en el medio donde tiene lugar la fermentación y se produce etanol. La fermentación se desarrolla sin aire, oxígeno u otros gases complementados (que pueden incluir condiciones tales como una fermentación anaeróbica, microaeróbica o microaerófila) durante al menos 24 horas, y se puede desarrollar durante 30 horas o más. El periodo de tiempo para alcanzar la máxima producción de etanol es variable, dependiendo de las condiciones de fermentación. Típicamente, si están presentes inhibidores en el medio, se requiere un periodo de fermentación más prolongado. Las fermentaciones se pueden desarrollar a temperaturas que están entre aproximadamente 30 °C y aproximadamente 37 °C, en un pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5.

La presente bacteria *Z. mobilis* puede ser cultivada en un medio que contiene azúcares mixtos, incluyendo xilosa, en fermentadores a escala de laboratorio y en una fermentación ampliada donde se producen cantidades comerciales de etanol. Cuando se desea una producción comercial de etanol, se pueden aplicar una diversidad de metodologías de cultivo. Por ejemplo, la producción a gran escala a partir de las presentes cepas de *Z. mobilis* se puede producir mediante metodologías de cultivo tanto discontinuas como continuas. Un método clásico de cultivo discontinuo es un sistema cerrado donde la composición del medio se ajusta al comienzo del cultivo y no se somete a alteraciones artificiales durante el proceso de cultivo. De esta manera, al comienzo del proceso de cultivo, se inocula el deseado organismo en el medio y se permite que tenga lugar la actividad metabólica o de crecimiento sin añadir nada al sistema. Sin embargo, típicamente, un cultivo "discontinuo" es discontinuo con respecto a la adición de fuente de carbono y a menudo se hacen intentos para controlar factores tales como el pH y la concentración de oxígeno. En sistemas discontinuos, las composiciones de metabolitos y biomasa del sistema cambian constantemente hasta el momento en que se termina el cultivo. En los cultivos discontinuos, las células se moderan a través de una fase estática de latencia hasta una fase logarítmica de alto crecimiento y finalmente hasta una fase estacionaria en la que disminuye o se detiene la velocidad de crecimiento. Si no son tratadas, las células de la fase estacionaria finalmente morirán. Las células de la fase logarítmica son a menudo responsables de la mayor parte de la producción del producto final o producto intermedio en algunos sistemas. En otros sistemas se puede obtener una producción en fase estacionaria o postexponencial.

Una variación del sistema discontinuo estándar es el sistema de alimentación discontinua. Los procesos de cultivo con alimentación discontinua son también adecuados para el crecimiento de las presentes cepas de *Z. mobilis* y comprenden un sistema discontinuo típico con la excepción de que se añade el sustrato en incrementos conforme progresa el cultivo. Los sistemas de alimentación discontinua son útiles cuando la represión de catabolitos tiende a inhibir el metabolismo de las células y cuando es deseable tener cantidades limitadas de sustrato en el medio. La medición de la concentración real de sustrato en los sistemas de alimentación discontinua es difícil y, por lo tanto, se estima basándose en los cambios de factores mensurables tales como el pH y la presión parcial de gases residuales tales como el CO₂. Los métodos de cultivo discontinuos y de alimentación discontinua son comunes y bien conocidos en la técnica, y se pueden hallar ejemplos de ellos en "Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology", Crueger, Crueger y Brock, segunda edición (1989), Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, o en Mukund V. Deshpande, Appl. Biochem. Biotechnol. 36, 227 (1992).

La producción comercial de etanol también se puede llevar a cabo con un cultivo continuo. Los cultivos continuos son sistemas abiertos en los que se añade continuamente un medio de cultivo definido a un biorreactor y se extrae simultáneamente una cantidad igual de medio acondicionado para su procesamiento. Los cultivos continuos mantienen generalmente las células con una densidad de fase líquida elevada y constante, estando fundamentalmente las células en crecimiento en fase logarítmica. Alternativamente, se puede llevar a la práctica el cultivo continuo con células inmovilizadas, añadiéndose continuamente carbono y nutrientes y retirándose continuamente productos valiosos, subproductos o productos de desecho de la masa celular. La inmovilización de células puede ser llevada a cabo usando una gran variedad de soportes sólidos compuestos de materiales naturales y/o sintéticos, como es sabido por un experto en la técnica.

El cultivo continuo o semicontinuo permite la modulación de un factor o de cualquier número de factores que afectan al crecimiento celular o a la concentración del producto final. Por ejemplo, un método mantendrá un nutriente limitante, tal como la fuente de carbono o el nivel de nitrógeno, en una proporción fija y permitirá que se moderen todos los demás parámetros. En otros sistemas, un número de factores que afectan al crecimiento puede ser continuamente alterado mientras se mantiene constante la concentración de células, medida mediante la turbiedad del medio. Los sistemas continuos tienden a mantener las condiciones de crecimiento en estado estacionario y, de este modo, la pérdida de células debida al medio que se extrae debe ser equilibrada con respecto a la velocidad de

crecimiento de las células en el cultivo. Los métodos para modular los nutrientes y los factores de crecimiento para procesos de cultivo continuos así como las técnicas para maximizar la velocidad de formación del producto son bien conocidos en el campo de la microbiología industrial, y una diversidad de métodos es detallada por Brock, *supra*.

5 Particularmente adecuado para la producción de etanol es un régimen de fermentación como el siguiente. La cepa deseada de *Z. mobilis* de la presente invención es cultivada en matraces agitados en un medio semicomplejo a una temperatura de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 37 °C, con agitación a aproximadamente 150 rpm en agitadores orbitales, y es luego transferida a un fermentador de siembra de 10 l de capacidad que contiene un medio similar. El cultivo de siembra es desarrollado anaeróbicamente en el fermentador de siembra hasta que la densidad óptica a 600 nm (OD_{600}) es entre 3 y 6, cuando es transferido al fermentador de producción donde se optimizan los parámetros de fermentación para la producción de etanol. Los volúmenes de inóculo típicos transferidos desde el depósito de siembra hasta el depósito de producción varían de aproximadamente 2% a aproximadamente 20% en volumen/volumen. El medio de fermentación típico contiene componentes de medio mínimo tales como fosfato potásico (1,0 – 10,0 g/l), sulfato amónico (0 – 2,0 g/l), sulfato magnésico (0 – 5,0 g/l), y una fuente de nitrógeno complejo tal como extracto de levadura o productos basados en soja (0 – 10 g/l). Está presente en el medio una concentración final de sorbitol o manitol aproximadamente 5 mM. Se añaden continuamente azúcares mixtos que incluyen xilosa y al menos un azúcar adicional tal como glucosa (o sacarosa), que proporcionan una fuente de carbono, al recipiente de fermentación tras el agotamiento de la fuente de carbono discontinua inicial (50 – 200 g/l) para maximizar la velocidad y el título de etanol. Las velocidades de alimentación de la fuente de carbono se ajustan dinámicamente para asegurar que no se está acumulando glucosa en exceso en el cultivo, lo que podría conducir a la acumulación de subproductos tóxicos tales como el ácido acético. Con objeto de maximizar el rendimiento de etanol producido a partir del sustrato utilizado, se restringe el crecimiento de biomasa mediante la cantidad de fosfato que es alimentada discontinuamente al inicio o que es alimentada durante el curso de la fermentación. El pH de la fermentación es controlado en un valor de 5,0 – 6,0 usando una disolución cáustica (tal como hidróxido amónico, hidróxido potásico o hidróxido sódico) y ácido sulfúrico o fosfórico. La temperatura del fermentador es controlada en un valor de 30 °C – 35 °C. Con objeto de minimizar la formación de espuma, se añaden agentes antiespumantes (agentes basados en silicona de cualquier clase, basados en compuestos orgánicos, etc.) al recipiente según sea necesario. Para minimizar la contaminación se puede utilizar opcionalmente un antibiótico, para el cual hay un marcador resistente al antibiótico en la cepa, tal como kanamicina.

30 Cualquier conjunto de condiciones anteriormente descrito, y variaciones adicionales en estas condiciones que son bien conocidas en la técnica, son condiciones adecuadas para la producción de etanol por una cepa de *Zymomonas* recombinante que utiliza xilosa.

Ejemplos

35 La presente invención es adicionalmente definida en los ejemplos siguientes. Se debe entender que estos ejemplos, aunque indican realizaciones preferidas de la invención, sólo se proporcionan a modo de ilustración. A partir de la discusión anterior y estos ejemplos, un experto en la técnica puede determinar las características esenciales de esta invención y puede realizar diversos cambios y modificaciones de la invención para adaptarla a los diversos usos y condiciones.

Métodos generales

40 Las técnicas estándares de DNA recombinante y clonación molecular empleadas en esta memoria son bien conocidas en este campo técnico y son descritas por J. Sambrook, E. F. Fritsch y T. Maniatis, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, New York (1989) (en lo sucesivo "Maniatis"); y por T. J. Silhavy, M. L. Bannan y L. W. Enquist, "Experiments with Gene Fusions", Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, New York (1984); y por F. M. Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", publicado por Greene Publishing Assoc. y Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey (1987).

45 El significado de las abreviaturas es el siguiente: "kb" significa kilobases, "bp" significa pares de bases (del inglés, base pairs), "nt" significa nucleótidos, "h" significa horas, "min" significa minutos, "s" significa segundos, "d" significa días, "l" significa litros, "ml" significa mililitros, "µl" significa microlitros, "µg" significa microgramos, "ng" significa nanogramos, "mM" significa milimolar, "µM" significa micromolar, "nm" significa nanómetros, "µmol" significa micromoles, "pmol" significa picomoles, "Cm" significa cloranfenicol, "Cm^r" significa resistente a cloranfenicol, "Cm^s" significa sensible a cloranfenicol, "Sp" significa resistencia a espectinomicina, "Sp^s" significa sensible a espectinomicina, "XI" es xilosa isomerasa, "XK" es xilulocinasa (del inglés, xylulokinase), "TAL" es transaldolasa, "TKT" es transcetolasa (del inglés, transketolase), "OD600" significa densidad óptica (del inglés, optical density) medida a una longitud de onda de 600 nm, "PCR" significa reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, polymerase chain reaction), "kDa" significa kilodáltones, "g" significa la constante de gravitación, "bp" significa pares de bases, "kbp" significa kilopares de bases, "HPLC" significa cromatografía de alta eficacia en fase líquida (del inglés, high performance liquid chromatography) y "GC" significa cromatografía en fase gaseosa (del inglés, gas chromatography), "RM" significa medio rico (del inglés, rich medium) que contiene 10 g/l de extracto de levadura más 2 g/l de KH₂PO₄, "MM" significa medio de cruce (del inglés, mating medium) que contiene 10 g/l de extracto de levadura, 5 g/l de triptona, 2,5 g/l de (NH₄)₂SO₄ y 0,2 g/L de KH₂PO₄.

Ejemplo 1

Acumulación de ribulosa en la cepa ZW1801-4 de *Zymomonas mobilis*

En la Patente de EE.UU. n° 7.741.119 se describió la cepa recombinante ZW801-4 de *Z. mobilis*. La cepa ZW1801-4 procedía de la cepa ZW800, que procedía de la cepa ZW658, todas como se describen en el Documento US 7.741.119. Se construyó ZW658 integrando dos operones, $P_{gap}xylAB$ y $P_{gap}taltkt$, que contienen cuatro genes de utilización de xilosa que codifican xilosa isomerasa (*xylA*), xilulocinasa (*xylB*), transaldolasa (*tal*) y transcetolasa (*tkt*), en el genoma de ZW1 (nuevo nombre de la cepa ZM4: ATCC n° 31821) a través de procesos de transposición secuenciales para producir la cepa X13L3, que fue renombrada ZW641, lo que fue seguido de adaptación en medios selectivos que contienen xilosa. Se depositó ZW658 bajo el Tratado de Budapest como ATCC n° PTA-7858. En ZW658, el gen que codifica glucosa-fructosa oxidoreductasa fue inactivado por inserción usando doble entrecruzamiento, recombinación homóloga y resistencia a espectinomicina como un marcador seleccionable, todo mediado por el huésped, para crear la cepa ZW800. El marcador de resistencia a espectinomicina, que lindaba con sitios *loxP*, fue eliminado por recombinación específica del sitio usando recombinasa Cre para crear la cepa ZW801-4. Como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. n° US 20090246846 A1, en propiedad común y tramitación con la presente, ZW648 presenta mucha más actividad xilosa isomerasa (aproximadamente 7 veces más) que ZW641 (representada por la cepa X13bC) a causa de una mutación en el promotor (P_{gap}) que expresa la región de codificación de *xylA*.

Se cultivó ZW801-4 en un medio que contenía xilosa como única fuente de carbono (medios MRM3X10: extracto de levadura al 1%, KH_2PO_4 15 mM, $MgSO_4$ 4 mM y 100 g/l de xilosa) y en un medio con 100 g/l de glucosa en sustitución de la xilosa (MRM3G10). Las células se cultivaron a 33 °C con agitación mínima (125 rpm en un agitador orbital LAB-Line; Terra Universal, Inc., Fullerton, California). Se analizaron la ribulosa y otros productos de fermentación por cromatografía de alta eficacia (HPLC). El análisis por HPLC se llevó a cabo en un aparato Agilent serie 1200 (Agilent Technologies, Santa Clara, California) con detectores tanto de índice de refracción como de red de diodos. La fase móvil consistía en ácido sulfúrico 0,01 N a un caudal de 0,5 ml/min. Se utilizó una columna Shodex SH1011 (Showa Denko, Tokio, Japón) para azúcares, para la separación de sustratos y productos de fermentación. Los patrones externos incluían D-glucosa, D-xilosa, glicerol, acetato, etanol y D-ribulosa (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri) en diversas concentraciones para la calibración y la comparación de productos que se acumulaban en los medios de cultivo. La señal por índice de refracción para el patrón de D-ribulosa estaba en un tiempo de retención de 17,3 minutos y, como se esperaba, no se presentó señal con la detección por red de diodos. El análisis de los medios de cultivo mostró que la producción de ribulosa comenzó muy pronto en el cultivo que contenía xilosa y continuó hasta que se hubo agotado la fuente de xilosa. Además, sólo se acumulaba ribulosa cuando se cultivaban las células en medios que contenían xilosa (Figura 2, línea discontinua). La comparación de los medios de cultivo por HPLC para la cepa ZW801-4 desarrollada en medios de cultivo con glucosa como fuente de carbono (Figura 2, línea continua) no mostró producción transitoria ni acumulada de ribulosa a pesar del uso completo de este sustrato (Figura 2). No se utilizó la xilosa hasta compleción en el cultivo que contenía medio de xilosa.

Ejemplo 2

Modificación de bacterias *Z. mobilis* con gen quimérico de ribulosa-5-fosfato isomerasa de *Z. mobilis*

Se llevó a cabo la expresión de una copia extracromosómica de un gen quimérico que contiene la región de codificación nativa de ribulosa-5-fosfato isomerasa (RPI-A) de *Z. mobilis* clonando la región de codificación en un vector lanzadera adyacente a un promotor de glucosa isomerasa (GI) procedente de *Actinoplanes missouriensis*.

La región de codificación de RPI-A de *Z. mobilis* (ID. SEC. n° 1870) fue aislada de DNA genómico de la cepa ZW1 (nuevo nombre de la cepa ZM4: ATCC 31821) usando la PCR. Se preparó DNA genómico de ZW1 usando un kit Puregene para la purificación de DNA genómico, siguiendo las instrucciones del fabricante (Gentra Systems, Minneapolis, Minnesota). Se diseñaron cebadores de PCR para multiplicar la región de codificación de RPI-A e incorporar sitios de enzimas de restricción apropiados con fines de clonación. También se diseñaron cebadores de PCR para conservar la distancia nativa entre la secuencia Shine-Dalgarno del promotor y el codón de iniciación de la región de codificación.

Los cebadores de PCR empleados para aislar la región de codificación de RPI-A fueron el Cebador-1 y el Cebador-2 (ID. SEC. números 1 y 2). La secuencia del Cebador-1 corresponde al extremo 5' de la región de codificación de RPI-A, incluyendo el codón de iniciación nativo y 15 bp de la secuencia del extremo terminal 3' del promotor GI de *A. missouriensis*. El Cebador-2 incluye el extremo 3' de la región de codificación de RPI-A, que lleva incorporados el codón de parada nativo y un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción XhoI. Una PCR usando DNA genómico de ZW1 de *Z. mobilis* con el Cebador-1 y el Cebador-2 dio lugar a un fragmento de DNA que contenía la secuencia de codificación de RPI-A de 474 bp, con 15 bp de la secuencia del promotor GI en el extremo 5' y un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción XhoI en el extremo 3'.

Se aisló el promotor GI de *A. missouriensis* (ATCC 14538) de 186 bp (ID. SEC. n° 14) por PCR usando los cebadores Cebador-3 y Cebador-4 (ID. SEC. números 3 y 4). El Cebador-3 de PCR contiene la secuencia para los

sitios de reconocimiento de las enzimas de restricción NcoI y SacI situados en el extremo 5' del fragmento del promotor GI. La secuencia para el Cebador-4 contiene el extremo 3' del promotor GI y los primeros 15 bp para la secuencia de codificación de RPI-A.

5 Los productos de PCR, el promotor GI y la secuencia de codificación de RPI-A, se combinaron en una segunda PCR usando sólo los cebadores Cebador-2 y Cebador-3, lo que dio lugar a un fragmento de DNA que contenía el promotor GI ligado a la secuencia de codificación de RPI-A, conservándose la distancia entre la secuencia Shine-Dalgarno y el codón de iniciación. El fragmento de DNA fue luego digerido con las enzimas de restricción NcoI y XhoI y fue ligado en el vector lanzadera pZB188/aadA de *Zymomonas-E. coli* previamente tratado con las dos mismas enzimas. pZB188/aadA (ID. SEC. n° 15) es un vector construido a partir de pZB188, descrito en el Documento US 5514583, que es capaz de replicarse en *E. coli* y *Z. mobilis* y tiene un marcador de resistencia a tetraciclina. La construcción de pZB188/aadA se describió en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. n° 10 US 2009-0246876 A1, en propiedad común y tramitación con la presente (Ejemplo 5), y tiene una delección del marcador de resistencia a tetraciclina y su sustitución por un marcador de resistencia a espectinomicina. Después de la ligación, el plásmido resultante, denominado pZB-GI-RPI (ID. SEC. n° 16), fue empleado para transformar células SCS110 de *E. coli* químicamente competentes (Stratagene, San Diego, California) usando el protocolo del fabricante.

20 El plásmido pZB-GI-RPI aislado de células SCS110 fue utilizado para transformar la cepa competente ZW801-4 de *Z. mobilis*. Se prepararon células ZW801-4 competentes desarrollando cultivos durante la noche en MRM3G5 (extracto de levadura al 1%, KH₂PO₄ 15 mM, MgSO₄ 4 mM y 50 g/l de glucosa) a 30 °C. Se recogieron las células el día siguiente y se transfirieron a medio fresco hasta un valor inicial de OD600 de 0,025. Los cultivos fueron desarrollados hasta una OD600 de 0,5 y fueron luego recolectados y lavados una vez con agua esterilizada por filtración, a 4 °C, y después dos veces con glicerol al 10% a 4 °C. Las células competentes, concentradas por un factor de 200X (OD600 = 100) se guardaron a -80 °C hasta su uso.

25 Se aislaron cepas transformadas de *Z. mobilis* que contenían el plásmido pZB-GI-RPI a partir de colonias individuales después de una incubación en placas MRM3G5-Spec250 (medios MRM3G5 con 250 mg/l de espectinomicina y 15 g/l de agar) durante 2 días a 30 °C en un vaso anaeróbico usando AnaeroPacks (Mitsubishi Gas Chemical, New York, EE.UU.).

Ejemplo 3

30 Efectos de una expresión aumentada de ribulosa-5-fosfato isomerasa de *Z. mobilis* en cepas de *Z. mobilis* recombinantes

35 Para determinar si las cepas de *Z. mobilis* recombinantes que llevaban copias extracromosómicas del gen RPI-A presentaban niveles alterados de ribulosa y una fermentación mejorada de xilosa, se seleccionaron cepas transformadas individuales que contenían pZB-GI-RPI de placas MRM3G5-Spec250. Las cepas transformadas (RPI-1 y RPI-2) fueron transferidas a medios líquidos MRM3G5-Spec250 con una OD600 inicial de 0,1 y fueron incubadas a 30 °C. Después de una incubación de 14-16 horas, las cepas fueron transferidas a medio MRM3X10 (extracto de levadura al 1%, KH₂PO₄ 15 mM, MgSO₄ 4 mM y 100 g/l de xilosa) y fueron incubadas durante 24 horas. El examen del efecto de un número de copias aumentado del gen RPI-A sobre la eficacia de la fermentación comenzó después de una segunda transferencia de los cultivos a medio MRM3X10 fresco como una medida para evitar el arrastre de glucosa del cultivo original. Se inocularon las cepas transformadas que llevaban pZB-GI-RPI y los testigos (W801-4 por duplicado: ZW801-1 y ZW801-2) hasta una OD600 inicial de 0,1 y se llevó a cabo una incubación a 30 °C. El crecimiento se determinó mediante mediciones de densidad óptica. Se determinaron el consumo de xilosa y la acumulación de producto (es decir, ribulosa y etanol) mediante un análisis por HPLC, como se describió en el Ejemplo 1.

45 En la Figura 3 (A-C) se muestran los resultados de la fermentación en medio MRM3X10. La Figura 3A es un registro del cambio de densidad óptica para dos cepas transformadas (RPI-1 y RPI-2) en comparación con los testigos (ZW801-4#1 y ZW801-4#2). A partir de estos datos se puede ver que los crecimientos precoces de las cepas transformadas y testigo eran similares. Sin embargo, en el punto temporal 48 horas la cepa testigo dejó de crecer mientras que las dos cepas transformadas independientes continuaron aumentando de masa celular. El aumento de masa celular acumulada por las cepas que llevan copias extra de la región de codificación de RPI-A de *Z. mobilis* se refleja también en el uso aumentado de xilosa y en el aumento de producción de etanol a lo largo de los puntos temporales posteriores de este experimento (Figuras 3B y 3C). En la Figura 3D también se muestra el curso temporal de la acumulación de ribulosa para cada cepa. A partir de estos datos es evidente que el nivel de ribulosa se redujo para las cepas recombinantes que contenían copias adicionales de la región de codificación de RPI-A de *Z. mobilis* en comparación con los testigos.

55 Ejemplo 4

Expresión del gen RPI-A de *E. coli* en *Zymomonas mobilis* recombinante

Se clonó la región de codificación de RPI-A de *E. coli* (región de codificación ID. SEC. n° 2108, proteína ID. SEC. n°

83) y se colocó en el vector lanzadera pZB188/aadA, en un gen quimérico expresado desde el promotor nativo de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAP) de *Z. mobilis* (de ZW1, también llamado ZM4; ID. SEC. nº 17).

A lo largo del diseño de cebadores se conservó la distancia nativa entre la secuencia Shine-Dalgarno para el promotor GAP y el codón de iniciación de la región de codificación de RPI-A de *E. coli*. Se añadieron apropiados sitios de reconocimiento para enzimas de restricción con fines de clonación. El Cebador-5 de PCR (ID. SEC. nº 5) incluye sitios de reconocimiento para NcoI y SacI añadidos al extremo 5' de la secuencia promotora de GAP. Usando el Cebador-6 (ID. SEC. nº 6) en una reacción, emparejado con el Cebador-5, y DNA genómico de ZW1 (ATCC nº 31821) como molde, se produjo un fragmento de DNA de 304 pares de bases que contenía el promotor GAP nativo completo de *Z. mobilis*. Este fragmento también contenía 15 pares de bases de la secuencia de codificación del extremo 5' para la región de codificación de RPI-A de *E. coli* por incorporación a la secuencia del Cebador-6. Usando el Cebador-7 y el Cebador-8 (ID. SEC. números 7 y 8), y DNA genómico aislado de *E. coli* K12, se multiplicó por PCR un fragmento de 660 pares de bases. El extremo 5' del fragmento contenía 15 pares de bases de la secuencia correspondiente al extremo 3' del promotor GAP. Se añadió la secuencia para el sitio de reconocimiento de la enzima de restricción XhoI al extremo 3' de la región de codificación de RPI-A. Se aislaron el promotor GAP y fragmentos de la región de codificación de RPI-A y se utilizaron en una segunda PCR con el Cebador-5 y el Cebador-8. Esta reacción dio lugar a un único fragmento de DNA que ligaba el promotor GAP a la región de codificación de RPI-A de *E. coli*, conservándose la distancia nativa entre Shine-Dalgarno y el codón de iniciación, incorporando también sitios de enzimas de restricción para clonación en el vector lanzadera pZB188/aadA (descrito en el Ejemplo 2). La inserción en el vector lanzadera fue seguida de digestión con las enzimas NcoI y XhoI. La transformación de células SCS110 competentes de *E. coli* con el producto de ligación permitió el aislamiento de un plásmido intacto (denominado pZB-GI-RPI-ECA) que fue luego utilizado para transformar células ZW801-4 competentes de *Z. mobilis* mediante los métodos descritos en el Ejemplo 2.

Se cultivaron colonias individuales de las placas MRM3G5-Spec250, cepas denominadas ZW801-rpiEc-1 y ZW801-rpiEc-2, en medio líquido MRM3G10 con espectinomicina (250 µg/ml) y se transfirieron luego a medio MRM3X10 fresco junto con la cepa ZW801-4 parental (ZW801-1 y ZW801-2) como un testigo. Se determinó la densidad óptica de los cultivos después de 16 horas de incubación a 30 °C. Se transfirieron las células a medio MRM3X10 fresco, minimizándose la transferencia de glucosa al medio de xilosa, y se comparó el crecimiento de las cepas que contenían el gen quimérico que expresa la región de codificación de RPI-A de *E. coli* con el crecimiento del testigo (por duplicado) para determinar si eran posibles un aumento de masa celular y una reducción de acumulación de ribulosa a través de la expresión de este gen heterólogo. Los resultados de la Figura 4 demuestran un aumento de acumulación de masa celular para las dos cepas independientemente aisladas que contienen el gen quimérico que expresa la región de codificación heteróloga de RPI-A en comparación con los testigos. Los resultados fueron similares a los demostrados para la región de codificación de RPI-A de *Z. mobilis*, mostrados en la Figura 3A, con las líneas transformadas que acumulan mayor masa celular. El análisis por HPLC también demostró una menor acumulación de ribulosa en el medio. El análisis del punto final a las 91 horas dio lugar a una acumulación de 3,03 g/l de ribulosa para una media de las dos cepas testigo y sólo 2,12 g/l y 1,93 g/l de ribulosa para las cepas ZW801-rpiEc-1 y ZW801-rpiEc-2, respectivamente. Los resultados de esta comparación son consistentes con los demostrados en el Ejemplo 3, que muestran que una expresión aumentada de RPI en una cepa que crece en un medio que contiene xilosa da lugar a un aumento de acumulación de masa celular y a una acumulación reducida de ribulosa.

Ejemplo 5

Ejemplo comparativo: Eficacia de la fermentación para una cepa ZW801-4 recombinante de *Z. mobilis* con una expresión más aumentada de xilosa isomerasa

Se hizo que se expresara la región de codificación de *xylA* de *E. coli* desde un promotor GAP sobre un vector lanzadera multicopia para aumentar la actividad de esta enzima. La expresión fue en la cepa ZW801-4, que es una cepa que utiliza xilosa con elevada actividad xilosa isomerasa a causa de una mutación en el promotor (*Pgap*) que expresa la región de codificación de *xylA*, como se describió en el Ejemplo 1.

La construcción de un vector pZB188/aadA (descrito en el Ejemplo 2 anterior) que contiene la región de codificación de xilosa isomerasa de *E. coli* (región de codificación ID. SEC. nº 20; proteína ID. SEC. nº 19) con su transcripción dirigida por un promotor nativo de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAP) de *Z. mobilis* (pZB188/aadA-GapXylA, también llamado pZB188/aadA-641GapXylA) fue previamente descrita en el Ejemplo 5 de la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. nº US 2009-0246876 A1, en propiedad común y tramitación con la presente. La casete de expresión *PgapXylA* (ID. SEC. nº 18) tiene el promotor GAP (*Pgap*) de la cepa ZW641.

Se transformó la cepa ZW801-4 con los plásmidos pZB188/aadA y pZB188/aadA-641GapXylA, como se describió en el Ejemplo 1 anterior. Se aislaron las cepas de colonias individuales desarrolladas en una placa MMG-KAN500 (extracto de levadura al 1%, KH₂PO₄ 15 mM, MgSO₄ 4 mM, 50 g/l de glucosa y 500 µg/ml de kanamicina) y se transfirieron a medio MRM3X10. Se ajustó la OD600 inicial de las células a 0,08 para cada cepa y luego se incubaron las células a 30 °C con agitación a 150 rpm.

En la Figura 5 se muestran las velocidades de crecimiento de las cepas en medio MRM3X10. Los resultados

5 muestran que las velocidades de crecimiento para los testigos (801/pZB188-1 y 801/pZB188-3) eran mayores que para las cepas transformadas con pZB188/aadA-641GapXylA (801/pXylA-2 y 801/pXylA-4). La masa celular final también resultó aumentada para las cepas testigo que se desarrollaban en medios que contenían xilosa. El análisis por HPLC de la Tabla 6 también demostró claramente el uso reducido de xilosa y la menor producción de etanol para las cepas que contenían pZB188/aadA-641GapXylA. También se halló que la acumulación de ribulosa por gramo de xilosa empleada estaba aumentada en estas cepas en comparación con la línea testigo.

De este modo, una expresión más aumentada de xilosa isomerasa en ZW801-4, que ya presenta una elevada expresión de xilosa isomerasa como se describió anteriormente, es perjudicial para la eficacia de la fermentación.

Tabla 6. Análisis por HPLC de medios de cultivo después de una incubación de 91 horas. Los datos están en g/l.

Cepa	Xilosa	Ribulosa	Etanol
801/pXylA-2	34,72	4,27	32,26
801/pXylA-4	39,05	3,93	29,67
801/pZB188-1	8,20	8,20	43,67
801/pZB188-3	5,57	6,95	45,17

10 Ejemplo 6

Eficacia de fermentación para la cepa ZW801-4 con expresión aumentada de xilosa isomerasa y ribulosa-5-fosfato isomerasa

Se evaluaron los efectos de aumentar la expresión tanto de xilosa isomerasa (XI) como de ribulosa-5-fosfato isomerasa (RPI) en la cepa ZW801-4 que expresa elevada actividad xilosa isomerasa.

15 La cepa ZW801-4 de *Z. mobilis* anteriormente descrita fue transformada secuencialmente con los vectores lanzadera pZB-GI-RPI, descrito en el Ejemplo 1, y pZB188/aadA-641GapXylA, descrito en el Ejemplo 5. Se aisló primero la cepa que contenía el vector de RPI-A, que contenía un marcador de espectinomicina, por transformación y selección en placas MRM3G5-spec. Las células transformadas fueron aisladas como colonias individuales y fueron luego
20 vueltas a transformar con el vector de xylA que contenía un marcador de resistencia a kanamicina. Se mostró que las cepas aisladas de placas MRM3G5-KAN eran tolerantes tanto a espectinomicina como a kanamicina, y a ellas se hace referencia como cepas xylA/GI-rpiZ.

Se cultivaron durante la noche colonias individuales que contenían los dos plásmidos (xylA/GI-rpiZ1.1 y xylA/GI-rpiZ1.2) en medio MRM3G10 tanto con espectinomicina (250 µg/ml) como con kanamicina (400 µg/ml). Se cultivaron
25 las cepas testigo (ZW801-1 y ZW801-2) en medio MRM3G10 sin ninguna selección por antibiótico. Se transfirieron luego las células a medio MRM3X10 y se incubaron durante 20 horas adicionales a 30 °C. Se realizó una transferencia final a medio MRM3X10 fresco, con una OD600 inicial de 0,1, para minimizar la transferencia de glucosa desde el cultivo original al medio de ensayo. Se incubaron la cepa testigo ZW801, por duplicado, y las cepas xylA/GI-rpiZ a 30 °C y se determinaron el crecimiento celular y el consumo de azúcar mediante un análisis por HPLC.

30 Los resultados se muestran en la Figura 6 (A-D). En la Figura 6A se muestra el crecimiento de las células a lo largo del experimento. Las cepas con expresión aumentada de XI y RPI crecieron a una velocidad aumentada y hasta una mayor masa celular final con respecto a los testigos. Los resultados están en contraste con los del Ejemplo 4, donde una cepa que sólo tenía una expresión aumentada de XI crecía a velocidad reducida en un medio que contenía xilosa. En las Figuras 6B y 6C también se muestra una eficacia de fermentación mejorada con un aumento de la
35 velocidad de utilización de xilosa y de la cantidad de xilosa final consumida por las cepas que llevan vectores lanzadera tanto de xylA como de RPI-A, con un uso aumentado de xilosa que se refleja en un aumento del título final de etanol. En la Figura 6D se muestra que también se halló que los niveles de ribulosa eran menores en comparación con los testigos.

40 De esta manera, la combinación de XI y RPI aumentadas corregía el efecto perjudicial de sólo una XI aumentada (Ejemplo 5) y aumentaba más la utilización de xilosa y la producción de etanol en la cepa ZW801-4 con alta expresión de XI.

Ejemplo 7

Niveles aumentados de proteína ribulosa-5-fosfato isomerasa en cepas recombinantes de *Z. mobilis*

45 Los datos de los ejemplos anteriores demostraron que una expresión aumentada de proteína RPI-A en bacterias *Z. mobilis* recombinantes daba lugar a una eficacia de fermentación aumentada. Este ejemplo demuestra un método alternativo para aumentar RPI en células transformadas.

El codón de iniciación de la traducción para la región de codificación de RPI-A de *Z. mobilis* (ID. SEC. nº 3895) fue cambiado del codón GTG de origen natural al codón ATG más común. Además, el promotor GAP nativo de *Z. mobilis* fue ligado a la secuencia de codificación para RPI-A mientras se conservaba la distancia entre la secuencia Shine-Dalgarno y el codón de iniciación para este promotor. Se aisló el promotor GAP (ID. SEC. nº 17) de DNA genómico de *Z. mobilis* ZW1 por PCR usando el Cebador-5 (ID. SEC. nº 5), que tiene sitios para enzimas de restricción NcoI y SacI incorporados al extremo 3', y el Cebador-9 (ID. SEC. nº 9), que contiene un solapamiento de 15 pares de bases con el inicio de la región de codificación de RPI-A. El solapamiento de 15 pares de bases en el Cebador-9 también altera el codón de inicio GTG nativo por un ATG.

Se aisló la región de codificación de RPI-A en una PCR separada utilizando DNA genómico de *Z. mobilis* ZW1 como molde con el Cebador-10 (ID. SEC. nº 10), también con el cambio del codón de inicio por ATG y un solapamiento de 15 pares de bases con el promotor GAP. Se emparejó el Cebador-11 (ID. SEC. nº 11) con el Cebador-10 en una reacción que condujo al aislamiento de la secuencia de codificación completa para RPI-A. El Cebador-11 también contiene un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción XhoI, para clonación en el vector lanzadera pZB188.

Después de las dos reacciones separadas, se desarrolló una tercera PCR con los dos productos de fragmentos de DNA aislados utilizando el Cebador-5 y el Cebador-11. De esta reacción se aisló un fragmento de DNA que contenía un promotor GAP ligado a la región de codificación de RPI-A con un codón de inicio ATG, y luego se digirió el fragmento con las enzimas NcoI y XhoI. El fragmento se ligó al vector lanzadera pZB188/aadA, que se empleó para determinar el efecto de un codón de inicio alterado sobre los niveles proteicos en estado estacionario de las células transformadas.

Como un testigo se aisló la misma región de codificación de RPI-A con su codón de inicio GTG nativo mediante el mismo método salvo por que el Cebador-12 (ID. SEC. nº 12) y el Cebador-13 (ID. SEC. nº 13) sustituyeron a los Cebadores 9 y 10. Después del primer ciclo de PCR, se aislaron los dos fragmentos de DNA, uno que contenía el promotor GAP con un solapamiento de 15 pares de bases con la región de codificación de RPI-A nativa y el otro que contenía la región de codificación de RPI-A con el codón de inicio nativo, y se utilizaron en una tercera PCR. Esta reacción incluía el Cebador-5 y el Cebador-11 y produjo un fragmento de DNA que contenía el promotor GAP ligado a la región de codificación de RPI-A con un codón de inicio GTG nativo. Este fragmento fue digerido con las enzimas de restricción NcoI y XhoI y fue ligado al vector lanzadera pZB188/aadA. El vector de expresión de RPI-A nativo-promotor GAP fue utilizado como un testigo para comparar con los niveles proteicos producidos por las células que contenían el mismo promotor ligado a la versión alterada ATG de la región de codificación de RPI-A.

Se transformaron células competentes SCS110 de *E. coli* con los vectores lanzadera que contenían los genes nativo y alterado en ATG. Se emplearon los plásmidos aislados de *E. coli* para transformar células ZW801-4 competentes y se seleccionaron colonias individuales mediante siembra en placas MRM3G5-spec. Las colonias individuales aisladas, denominadas ZW801 GAP-rpi-1, ZW801 GAP-rpi-3 y ZW801 GAP-rpi-4, fueron cultivadas durante la noche en medios MRM3G5 con espectinomicina (250 µg/ml) y fueron recolectadas para la preparación de extractos proteicos. Se prepararon extractos transfiriendo células a medio MRM3G10 fresco y cultivando hasta una OD600 de 0,6 a 0,8. La concentración de proteína total en los extractos se controló por dilución de las células en una relación de OD600 1 a 44,38 µl de tampón de muestras. El tampón de muestras consistía en 650 µl de agua, 250 µl de tampón de carga Nupage 4X y 100 µl de tampón reductor Nupage 10X. Las células suspendidas en tampón de muestras fueron calentadas a 80 °C durante 10 minutos. Se recogieron los sobrenadantes después de una centrifugación a 13.000 rpm durante 10 minutos. Se cargaron quince microlitros de extracto proteico de los sobrenadantes y patrones no teñidos Mark12 (Invitrogen, Carlsbad, California) en un gel de acrilamida Nupage Bis-Tris al 4-12% (Invitrogen, Carlsbad, California) que fue desarrollado utilizando el tampón de desarrollo Nupage MES SDS 1X.

En la Figura 7 se muestra el gel de SDS teñido con SimplyBlue SafeStain (Invitrogen, Carlsbad, California). En esta figura se puede ver que el nivel de proteína RPI-A de un extracto de proteína total era mayor en las cepas que contenían la región de codificación de RPI-A con el codón de inicio alterado (ZW801 GAP-rpi-1, ZW801 GAP-rpi-3 y ZW801 GAP-rpi-4 en los carriles 2, 3 y 4, respectivamente) que en los carriles testigo que contenían la región de codificación de RPI-A nativa (carriles 5 y 6). Los resultados son una clara demostración de que el nivel de proteína RPI-A de *Z. mobilis* aumentó en las líneas transformadas al cambiar el codón de inicio del GTG nativo a ATG.

Ejemplo 8

Análisis estructural de enzimas ribosa-5-fosfato isomerasa

Para el análisis de la estructura de la secuencia de RPI, se extrajeron proteínas RPI funcionalmente caracterizadas como ribosa-5-fosfato isomerasas de las bases de datos Brenda ("BRENDA, AMENDA and FRENDA the enzyme information system: new content and tools in 2009", A. Chang, M. Scheer, A. Grote, I. Schomburg, D. Schomburg, Nucleic Acids Res. 2009, Vol. 37, Database issue, D588-D592) y PubMed (US National Library of Medicine, National Institutes of Health). Estas secuencias semilla incluían 15 secuencias para RPI-A y 5 secuencias para RPI-B. Las secuencias semilla para RPI-A son las de *E. coli* (ID. SEC. nº 83), *Enterobacter cloacae* (ID. SEC. nº 84), *Vibrio vulnificus* (ID. SEC. nº 85), *Thermus thermophilus* (ID. SEC. nº 86), *Chlamydomonas reinhardtii* (ID. SEC. nº 87),

Spinacia oleracea (ID. SEC. nº 88), *Arabidopsis thaliana* (ID. SEC. nº 89), *Arabidopsis thaliana* (ID. SEC. nº 90), *Plasmodium falciparum* (ID. SEC. nº 91), *Pyrococcus horikoshii* (ID. SEC. nº 92), *Methanocaldococcus jannaschii* (ID. SEC. nº 93), *Fibrobacter succinogenes* (ID. SEC. nº 94), *Homo sapiens* (ID. SEC. nº 95), *Caenorhabditis elegans* (ID. SEC. nº 96) y *Saccharomyces cerevisiae* (ID. SEC. nº 97). Las secuencias semilla para RPI-B son las de *Mycobacterium tuberculosis* (ID. SEC. nº 1213), *Thermotoga maritima* (ID. SEC. nº 1214), *Clostridium thermocellum* (ID. SEC. nº 1215), *Escherichia coli* (ID. SEC. nº 1216) y *Trypanosoma cruzi* (ID. SEC. nº 1217).

Cada secuencia (miembro) de las secuencias semillas se utilizó para buscar en la base de datos Genbank no redundantes (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Maryland) usando BLAST con el valor E ajustado a 0,001. Se combinaron separadamente los resultados de la búsqueda Blast para RPI-A y RPI-B y se llevó a cabo la redundancia para 100% de ID y 100% de solapamiento de longitudes. Este análisis dio lugar a 1232 secuencias de RPI-A y 1206 secuencias de RPI-B. Estos números fueron reducidos a 1155 secuencias de RPI-A y 1112 secuencias de RPI-B al conservar las secuencias con una longitud en el intervalo de 200-300 aminoácidos para RPI-A y 125-185 aminoácidos para RPI-B.

Se realizó un alineamiento múltiple de secuencias para cada conjunto de secuencias semilla de RPI-A y RPI-B, que fue luego utilizado para crear un perfil de modelo oculto de Markov (HMM) usando el algoritmo hmsearch del paquete informático HMMER siguiendo la guía de usuario que está disponible en HMMER (Janelia Farm Research Campus, Ashburn, Virginia, EE.UU.). La teoría detrás de los perfiles HMM es descrita por R. Durbin, S. Eddy, A. Krogh y G. Mitchison, "Biological sequence analysis: probabilistic models of proteins and nucleic acids", Cambridge University Press, 1998; Krogh et al., 1994, J. Mol. Biol. 235: 1501-1531). Como se afirma en la guía de usuario, los perfiles HMM son modelos estadísticos de alineamientos múltiples de secuencias. Captan información, específica de la posición, acerca de cuán conservada está cada columna del alineamiento y qué restos de aminoácido tienen más probabilidades de encontrarse en cada posición. De esta manera, los HMM tienen una base probabilística formal. Los perfiles HMM para un gran número de familias de proteínas están públicamente disponibles en la base de datos PFAM (Janelia Farm Research Campus, Ashburn, Virginia, EE.UU.) y el software está públicamente disponible para crear perfiles HMM.

Los perfiles HMM se construyeron del modo siguiente:

Operación 1. Construcción de un alineamiento de secuencias

Se alinearon las secuencias semilla (secuencias con caracterización funcional de alta confianza) usando Clustal W con los parámetros por omisión.

Operación 2. Construcción de un perfil HMM

Se puso en marcha el programa hmmbuild sobre cada conjunto de secuencias alineadas usando los parámetros por omisión. Hmmbuild lee el archivo de alineaciones múltiples de secuencias, construye un nuevo perfil HMM y guarda el perfil HMM en un archivo. Utilizando este programa se generó un perfil a partir del alineamiento múltiple para cada conjunto de secuencias semilla anteriormente descrito. El perfil HMM para RPI-A se proporciona en la Tabla 4, y el perfil HMM para RPI-B se proporciona en la Tabla 5.

La siguiente información basada en la guía de usuario del software HMMER proporciona alguna descripción sobre el modo en que el programa hmmbuild prepara un perfil HMM. Un perfil HMM permite modelar alineamientos con huecos, por ejemplo, incluyendo inserciones y supresiones, lo que permite al software describir un dominio conservado completo (en lugar de sólo un pequeño motivo sin huecos). Las inserciones y las supresiones se modelan usando estados de inserción (I) y estados de supresión (D; del inglés, *deletion*). Todas las columnas que contienen más de una cierta fracción x de caracteres de hueco serán asignadas como una columna de inserción. Por omisión, x está ajustado a 0,5. Cada estado de coincidencia (M; del inglés, *match*) tiene un estado I y un estado D asociados con él. HMMER llama un "nodo" a un grupo de tres estados (M/D/I) en la misma posición de consenso en el alineamiento. Estos estados están interconectados con flechas llamadas "probabilidades de transición de estado". Los estados M e I son emisores, mientras que los estados D son silenciosos. Las transiciones se disponen de modo que en cada nodo se utilice el estado M (y un resto es alineado y puntuado) o se utilice el estado D (y no se alinea ningún resto, lo que da lugar a un carácter de supresión-hueco, '-'). Las inserciones se producen entre nodos y los estados I tienen una autotransición, lo que permite que aparezcan uno o más restos insertados entre columnas de consenso.

Las puntuaciones de restos en un estado de coincidencia (es decir, puntuaciones de emisión de estado de coincidencia) o en un estado de inserción (es decir, puntuaciones de emisión de estado de inserción) son proporcionales a $\log_2(p_x) / (\text{null}_x)$, donde p_x es la probabilidad de un resto de aminoácido en una posición particular del alineamiento de acuerdo con el perfil HMM y null_x es la probabilidad de acuerdo con el modelo Nulo (del inglés, *Null*). El modelo Nulo es un sencillo modelo probabilístico de un estado que calcula previamente un conjunto de probabilidades de emisión para cada uno de los 20 aminoácidos procedentes de la distribución de aminoácidos en SWISSPROT, edición 24.

Las puntuaciones de transición de estado también se calculan como log de parámetros de probabilidades y son

proporcionales a $\log_2(t_x)$, donde t_x es la probabilidad de transitar a un estado emisor o no emisor.

Operación 3. Comprobación del perfil HMM

5 Los perfiles HMM fueron sometidos a búsqueda frente al correspondiente conjunto de compuestos homólogos a RPI-A o RPI-B recuperados por una búsqueda BLAST, como se indicó anteriormente. Se empleó un valor E de 0,1 como valor de corte, con el parámetro Z ajustado a 1000 millones. Mediante las búsquedas de perfiles HMM se identificaron todos los compuestos homólogos a secuencias de RPI-A y RPI-B salvo uno. La secuencia que no presentaba coincidencia fue eliminada. En la Tabla 4 se proporciona el perfil HMM de RPI-A; en la Tabla 5 está el perfil HMM de RPI-B.

Refinación de los conjuntos de secuencias de RPI-A y RPI-B

10 La ulterior refinación de los conjuntos de secuencias de RPI-A y RPI-B fue la siguiente. Se llevaron a cabo múltiples alineamientos de secuencias para eliminar las secuencias con truncamientos internos, N-terminales o C-terminales. Esto dio lugar a 1145 secuencias para RPI-A y ningún cambio para RPI-B (1112 secuencias).

15 Se evaluaron las secuencias con respecto a restos de sitio activo que habían sido identificados para RPI-A y RPI-B [Roos et al. (2004), J. Mol. Biol. 335: 799-809; Graile et al. (2005), Biochimie 87: 763-769]. Estos restos de sitio activo son:

Para RPI-A: ácido aspártico y ácido glutámico en las posiciones 107 y 128, respectivamente, de la secuencia de *S. cerevisiae* (D107 y E128; ID. SEC. nº 97). Las posiciones 107 y 128 de la proteína de *S. cerevisiae* corresponden a las posiciones 91 y 114, respectivamente, en el perfil HMM.

20 Para RPI-B: cisteína y treonina en las posiciones 66 y 68, respectivamente, de la secuencia de *E. coli* (C66 y T68; ID. SEC. nº 1216). Las posiciones 66 y 68 de la proteína de *E. coli* corresponden a las posiciones 69 y 71, respectivamente, en el perfil HMM.

OR: serina y ácido glutámico en las posiciones 68 y 72, respectivamente, de la secuencia de *M. tuberculosis* (S68 y E72; ID. SEC. nº 1213). Las posiciones 68 y 72 de la proteína de *M. tuberculosis* corresponden a las posiciones 71 y 75, respectivamente, en el perfil HMM.

25 Las proteínas que carecían de los apropiados restos de sitio catalítico fueron eliminadas de los conjuntos de compuestos homólogos a RPI-A o RPI-B. El conjunto final de proteínas RPI-A era de 1130 proteínas.

30 Se halló que, aunque el perfil HMM de RpiB se generó a partir de un alineamiento de secuencias de RPI-B procedentes de enzimas experimentalmente verificadas, el perfil HMM permite identificar una clase general de azúcar isomerasas conocida como la familia RpiB/LacA/LacB que contiene, además de ribosa-6-fosfato isomerasa, las dos subunidades LacA y LacB de la galactosa-6-fosfato isomerasa. Las dos subunidades son fácilmente identificables: están contiguamente situadas en el genoma, una subunidad carece de los dos restos catalíticos, y la otra lleva restos de sitio activo complementarios así como los dos restos catalíticos.

35 La subunidad LacA fue eliminada del conjunto RPI-B de proteínas por su carencia de los restos catalíticos. Las proteínas LacB se distinguen de las proteínas RPI-B basándose en que tienen leucina en lugar de asparagina en la posición 100 de las proteínas de *E. coli* y *M. tuberculosis* (ID. SEC. números 1216 y 1213). Las proteínas RPI-B pueden tener también glicocola, ácido aspártico, serina o ácido glutámico en la posición que corresponde a 100, que corresponde a la posición 104 en el perfil HMM. Las proteínas que tienen leucina en esta posición fueron eliminadas del conjunto de proteínas RPI-B, quedando 895 secuencias.

40 A lo largo de este análisis estructural, las proteínas que coinciden con la función de RPI-A han sido identificadas como ID. SEC. números 83 a 1212. Las secuencias de codificación para las proteínas RPI-A son las ID. SEC. números 2108 a 3237.

A lo largo de este análisis estructural, las proteínas que coinciden con la función de RPI-B han sido identificadas como ID. SEC. números 1213 a 2107. Las secuencias de codificación para las proteínas RPI-B son las ID. SEC. números 3238 a 4132.

45

Tabla 3

HMMER2.0 [2.3.2]
 NAME brenda_xyfa3_seqs-cor²
 LENG 455²
 ALPH Amino⁴
 MAP yes⁵
 COM hmrbulid brenda-xyfa3.hmm brenda_xyfa3_seqs-cor.aln⁶
 COM hmrbcaibra brenda-xyfa3.hmm⁷
 NSEQ 32⁸
 DATE Wed Mar 12 21:56:22 2006⁹
 XT -8455 -4 -1000 -1000 -8455 -4 -8455 -4
 NULT 4 -8455¹⁰
 NULE 595 -1558 85 338 -294 453 -1158 197 249 902 -1085 -142 -21 -313 45 531 201 384 -1898 -644¹¹
 EVD -379.728568 D.105452¹²

HMM	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
m->m	m->l	m->l	m->l	m->m	l->l	d->m	d->d	b->m	m->o											
	-152*		-3322																	
1(W)	-204	867	46	246	-204	-519	891	-475	338	-941	659	291	-334	598	147	143	7	-471	1289	198
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-383	-8312	-2119	-894	-1115	-701	-1378	-152*												
2(U)	-652	-1642	-4507	-4008	395	-3998	3165	3120	-3750	38	-736	-3643	-3693	-3438	-3659	-3185	-1974	1763	-2848	-2436
	-148	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-9	-7937	-8980	-894	-1115	-1952	-431*													
3(D)	-80	-2403	1750	355	-2717	573	-526	-2474	-145	-2417	-1502	888	1044	550	-866	634	860	-2023	-2568	-1891
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-9	-7937	-8980	-894	-1115	-1952	-431*													
4(K)	-1273	-2543	-1243	-600	-2938	-2188	-668	-2588	-2995	-2500	541	-838	-82	803	733	-1166	-210	-2211	-2612	-2068
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-9	-7937	-8980	-894	-1115	-1952	-431*													
5(U)	-2454	-1967	-5121	-4804	-2568	-4911	-4887	3182	-4747	-1338	-1282	-4599	-4682	-4874	-4889	-4283	-2449	2522	-4274	-3775
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-9	-7937	-8980	-894	-1115	-1952	-431*													
6(O)	-232	-2237	618	690	-2537	-420	-400	-2308	1437	-2253	-1327	1063	-363	1500	815	649	560	-754	-2421	-1740
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-9	-7937	-8980	-894	-1115	-1952	-431*													
7(Y)	-4607	-3566	-5021	-5330	2754	-4894	-1132	-3491	-4922	-2614	-2604	-3541	-4763	-3674	-4302	-4158	-4468	-3655	-380	-4361
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-9	-7937	-8980	-894	-1115	-1952	-431*													
8(E)	-1557	-2509	-804	2552	-3197	-2167	-1540	-2531	-1428	-2664	-2264	-1142	-2608	-1221	-1910	-404	-1676	630	-3370	-2737
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-828	210	-426	-720	275	394	45	96	359	117	-386	-294	-249
	-9	-7937	-8980	-894	-1115	-1952	-431*													
9(G)	-4079	-3617	-4766	-5131	-5608	3825	-4746	-6295	-5445	-6007	-5654	-4803	-4332	-5224	-5099	-4351	-4464	-5518	-4690	-5554
	-149	-500	233	44	-381	398	108	-825	210	-426	-721	275	364	45	97	359	117	-389	-295	-250
	-284	-2993	-8980	-602	-1552	-1952	-431*													

Tabla 3

10(K)	-21	-2785	-899	-143	2591	-1807	-444	-2325	2070	-2275	-1362	-444	1490	1183	432	193	169	-1862	2442	1783	52
	-149	-500	233	43	381	399	106	626	2 0	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
	9	-7937	8980	-894	-1115	-1952	-431	*													
11(K)	-236	2256	1513	758	-2576	-602	-412	-2328	1550	-2272	-1346	498	-1945	1040	-505	399	261	-1878	2440	-1758	53
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-488	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	8980	-894	-1115	-1952	-431	*													
12(S)	24	-1368	-1330	-776	-1457	-2005	-777	-219	3	-20	-569	944	-366	-548	-1012	2241	203	865	-1771	-1305	64
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-436	-720	275	394	45	96	359	117	-399	-294	-249	
	-9	-7937	8980	-894	-1115	-1952	-431	*													
13(K)	815	-2291	332	381	-2810	-1704	-439	-2362	2248	2306	-1393	929	-1870	1209	-537	203	744	1912	-2174	-1788	65
	-149	-500	233	43	381	399	106	826	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	8980	-894	-1115	-1952	-431	*													
14(N)	-112	-2690	-523	381	-2952	-1931	-753	2702	541	-2657	-1773	3142	2133	-322	-907	993	-1121	2256	-2817	-2142	66
	-149	-500	233	43	381	399	106	626	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	
	-9	-7937	8980	-894	-1115	-1952	-431	*													
15(P)	-67	-1766	-1443	-999	-2393	1282	-1134	-1992	272	-2170	1037	-1129	2529	-813	-1183	-1074	-1062	1664	-2530	-2038	67
	-149	-500	233	43	381	399	106	528	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	8	-7937	8980	-894	-1115	-1952	-431	*													
16(L)	-1558	-1364	-253	-3026	1709	-3054	-1523	-516	-2677	2198	1130	-2548	-3046	2242	-2517	-2147	-1490	-703	-1178	1973	68
	-149	-500	233	43	381	399	106	-326	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	8980	-894	-1115	-1952	-431	*													
17(A)	2559	340	-2407	1923	-114	254	-1611	-1400	-1746	-1704	967	-1746	2462	-1570	-1957	1242	-1053	-1168	2213	-1825	69
	-149	-500	233	43	381	399	106	-678	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-389	-294	-249	
	-8	-8005	-9047	-894	-1115	-1811	-494	*													
18(F)	3970	-2683	-6944	4092	3183	4617	-1220	-3051	4570	-2594	-2558	-3472	4567	-3655	-4097	-8851	332	-3156	493	2114	70
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-8	-8005	-9047	-894	-1115	-1811	-494	*													
19(K)	-152	-2771	-1507	-618	3232	-2365	2267	-2656	2363	-2715	-1073	46	2431	989	2056	-1394	-1391	-589	-2767	-2293	71
	-149	-500	233	43	381	399	106	626	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-8	-8005	-9047	-894	-1115	-1811	-494	*													
20(Y)	-3420	-2068	-4680	-6320	1830	-4361	3209	-2576	-4223	-638	-2142	-3313	-4295	-3226	-3904	-3534	-3326	-132	2390	3572	72
	-149	-500	233	43	381	399	106	626	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-8	-8005	-9047	-894	-1115	-1811	-494	*													
21(Y)	-3783	3746	2646	265	825	-3945	-1824	-3929	-3309	3512	3401	-2873	4182	3050	3402	3623	3928	-3890	-1488	4715	73
	-149	-500	233	43	381	399	106	626	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-8	-8005	-9047	-894	-1115	-1811	-494	*													
22(N)	-2403	-4115	2160	-610	4539	-2333	-1803	-4556	-2130	-4435	-3800	3631	-2908	-1490	-3023	-352	-2578	-3861	-4620	3586	74
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-8	-8005	-9047	-894	-1115	-1811	-494	*													
23(P)	1749	-1001	-2474	-2677	-4084	-2051	2903	-3873	-3079	-4087	3221	184	3510	-2758	-3227	-1440	-1653	-2366	-4268	3960	75
	-149	-500	233	43	381	399	106	-826	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-8	-8005	-9047	-894	-1115	-1811	-494	*													

Tabla 3

37(R)	-3325	-3893	-4311	-2023	-4835	-3766	1845	-4080	1753	3874	-3032	-2431	-3680	-1120	3394	-3181	-2938	-3882	-3468	-3430	88
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
38(F)	-5308	-4420	-5510	-5418	-4547	-4821	-5048	-4956	5882	3992	4112	4945	5217	5110	5315	5383	5399	4866	2941	-1279	90
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
39(S)	2011	-1975	-4184	-4245	-4465	-522	-3870	-4249	-4052	-4495	-3559	-2916	-3035	-3647	-3928	2570	1572	-3083	-4681	-4554	91
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
40(V)	-389	-1555	-4211	-3620	2221	-3520	-2467	827	-3266	-146	1600	3166	-3495	-2880	-3090	2639	-1760	2647	-2235	1917	92
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
41(A)	2098	1546	-4577	-4780	-4439	1767	-3022	-4189	-4447	-4490	-5551	-3040	-3056	-3946	-4144	-1616	-19	-3053	-4596	-4614	93
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
42(Y)	-4757	-3601	-5352	-5028	2454	-5180	-1481	-3301	-5191	1280	-3022	-3885	-5051	-3974	-4590	-4478	-4620	-3780	3031	-3835	94
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
43(W)	-6178	-4895	-5948	-6204	-4109	-4852	-4743	-6550	-6203	5992	6031	5971	5371	6028	-5696	6571	6329	6539	6291	3733	95
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
44(H)	-2390	-2840	-3006	-3167	-3381	-3025	-4386	-4377	-2882	-4385	-3795	-2928	-3650	-3087	-2954	-2556	2015	-3712	-3568	-2968	96
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
45(T)	-1111	-1722	-3459	3693	4071	-1978	3313	-3836	-3645	4141	3273	-2588	2762	3316	-3519	182	3786	2767	-4303	-4118	97
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
46(F)	-2728	-2359	-5136	-4548	-3854	-4572	-3468	910	4262	475	1893	4231	4294	-3617	-3933	3745	-2649	1605	2824	2891	98
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
47(C)	-1098	-2874	1338	-866	-2308	1340	-1058	-2307	-774	-2171	-1398	-1075	-2324	-705	113	-1140	1757	-600	2527	-1988	99
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
48(W)	1080	-2286	913	535	-2648	416	-675	-2251	-288	-2283	573	864	-2038	1523	-790	-823	-846	-1882	3539	-1888	100
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
49(D)	994	-2495	1756	976	-2765	-1892	-625	-2536	-208	-2481	-1556	1471	-2058	1356	816	-349	553	-426	-2550	-1567	101
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
50(W)	-204	887	46	246	-204	618	891	-475	348	-941	698	291	-341	598	147	-143	7	-471	1289	199	102
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 3

64(W)	-4762	-4593	2301	-3636	-3451	-4258	-3709	-5621	4679	5893	-5229	-3844	-4736	-4222	-4824	-4710	-4913	-5577	-5797	-3009	116
	-149	-500	233	43	-381	396	106	-676	210	-466	-720	275	394	46	96	359	117	-368	-294	-249	
	-130	-8226	-3598	-894	-1115	-1121	-893														
65(U)	-1309	-2840	2011	494	-3136	-2037	-873	-2566	-572	-2646	-1965	2010	1171	1170	-1125	-1150	-1269	-671	-3021	-2290	117
	-149	-500	233	43	-381	396	106	-676	210	-466	-720	275	394	46	96	359	117	-368	-294	-249	
	-2311	-8107	-331	-694	-1115	-626	-1503														
66(V)	-635	-862	-1209	-779	422	-1778	-110	-454	-556	590	-63	1215	-1669	-452	-185	-844	-583	-360	-175	-2802	118
	-149	-500	234	43	-381	398	106	-676	210	-466	-721	275	384	46	96	359	117	-369	-294	-249	
	-1029	-868	-7468	-137	-3461	-571	-1614														
67(H)	-8	-2243	374	1170	-2564	65	1378	-2314	1276	-2259	-1332	-378	-1836	1253	907	-8	-709	-1866	-2426	-1743	120
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
68(V)	-804	-1603	-77	-470	-287	1328	-615	-1330	378	-176	-755	707	-70	-291	-797	-226	-744	-1106	-1927	-2425	121
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
69(T)	-167	-2183	188	-187	-2570	677	-524	-2303	382	-2287	-1382	-483	-141	-60	-634	885	2088	-1868	-2484	-1822	122
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-676	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
70(U)	-1090	-2605	2512	741	-2903	391	637	-2674	-342	-2615	-1713	685	-2065	-234	-683	9	763	-2720	-2788	-2070	123
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-262	-7937	-2624	-894	-1115	-1952	-431														
71(P)	1251	-2101	-548	596	-2491	-1704	-497	-2212	497	-2217	-1335	-724	-2156	-66	-607	786	-767	-1795	-2431	-1781	124
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-10	-7685	-6728	-894	-1115	-1200	-825														
72(M)	-1983	-1721	-4201	-671	-1027	-3662	-2508	473	-3258	1831	-3633	-3253	-3511	-2756	-3069	-2772	-1908	239	-2109	-1917	125
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
73(D)	325	-3518	2804	2034	-3751	-2131	-1242	-3583	-1187	-3502	-2691	664	-2522	465	-1859	-1573	-1824	-3106	-3604	-2831	126
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
74(N)	-162	697	-1246	48	-1449	-1992	-713	457	968	607	-1668	-878	-2071	590	824	-952	177	-694	-1751	-1277	127
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-676	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
75(A)	3639	-2502	-4171	4484	4594	-2730	3982	-4412	-4488	-4693	-4043	-3437	-3468	-4163	-4245	-2257	-2480	-3528	-4478	-4638	129
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
76(K)	-1027	-2025	-1083	321	-188	-2040	1005	-1850	2712	477	-1152	-762	-2121	-270	-604	-1005	-952	-1581	-2205	-1638	129
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-9	-7937	-8930	-894	-1115	-1952	-431														
77(A)	2085	-2164	961	-400	-2453	-1963	-598	-2122	-76	-2138	472	938	-2059	608	1792	-921	-920	-1780	-2390	-1615	130
	-149	-500	233	43	-381	399	106	-676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	

Table 3

91(V)	1814	-1770	-4355	-3892	-2144	-3716	-3087	1744	-5628	-1521	-1158	-748	3817	-3368	-3576	-2912	-2012	2602	2919	-2593	144	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
92(P)	-1776	-2655	795	1452	-2875	-2054	1551	-2732	293	-2676	-1754	301	2104	-333	-927	-1042	-1122	-2283	-2848	-1814	145	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
93(Y)	-3660	-3259	-4548	-4414	1574	1637	-1482	-3075	-3905	-2811	-2599	-3440	-4500	-3180	-96	-3686	-3803	-3182	-632	-3849	146	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
94(F)	-1766	-1543	3984	-3431	2848	-3263	-1548	558	-3029	322	-605	-2801	3277	-2560	-2795	-2362	-1702	919	1783	2653	147	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
95(C)	367	5082	-4216	-4291	-4096	-2272	-3593	-3763	-4037	-4028	3236	350	-3041	-3843	-3867	-1821	1854	1854	-2056	-4369	-4220	148
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
96(F)	-4120	-3102	-5536	-5637	4337	-5230	-2140	-2218	-5288	125	-1817	-4338	-5053	-4174	4738	-4870	-4312	2823	-1358	-250	149	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
97(H)	-5306	-4764	-5029	-5331	-4362	-4732	-1955	-8534	-5266	-6052	-5977	-5974	-5186	-5341	-5054	-5727	-5709	-6336	-4337	-3976	150	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
98(D)	4886	-4905	1186	3338	5849	-4221	-4195	8686	4787	6283	6022	3676	4750	4186	5197	4762	5055	6189	5117	5607	151	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
99(F)	-1078	-2255	1071	345	-2468	-2070	-762	246	-400	-2220	-1378	214	-2175	-352	2145	-1018	-1019	1582	-2508	-1888	152	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
100(W)	-204	887	46	246	-204	-619	891	-475	338	-941	659	291	-394	599	147	-143	7	471	1260	199	153	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
101(D)	-4366	-4905	3338	-3338	-5849	-4221	-4195	-8534	-5266	-6052	-5977	-5974	-5186	-5341	-5054	-5727	-5709	-6336	-4337	-3976	154	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
102(U)	-3148	-2630	-5718	-5292	-1896	-5478	-4785	2752	-5148	2210	-760	-5158	-4982	-4511	-4983	-4870	-3092	885	3726	3686	155	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
103(A)	2332	880	-3499	-2805	155	-2753	-1667	1413	-2507	-912	-290	-2404	-2824	-2151	-2344	131	-1170	922	-1560	-1235	156	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
104(P)	-672	-3716	211	35	-4479	2521	-1993	-4330	2167	-4283	-3563	-1294	3785	1866	-2911	-671	-2163	3744	-4510	-3639	157	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249		
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		

Tabla 3

119(C)	-379	-2417	-845	1254	-2722	-794	874	-200	1175	2429	150	604	2052	1632	717	485	-194	224	-2610	-1937	171
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	86	359	117	-569	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
119(M)	-1906	-1631	-4282	-3775	-1632	-3626	1153	2609	-3368	-1030	2854	-3290	-3631	-3031	-3229	-2180	-1858	1751	-2428	-2079	172
-	-178	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
120(V)	-1675	-1428	-4046	-3466	-1536	-3381	1345	1345	-3118	-358	2664	-3016	-3390	-2765	-2974	-980	862	2832	-2196	-1841	173
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
121(D)	893	-2650	2188	1147	2837	374	691	-2820	633	2664	-1614	637	2116	-235	310	332	-1012	-2171	-2733	-2044	174
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
122(W)	-1064	-1346	-390	-1330	-150	-875	767	37	931	35	2022	-1413	-2427	-1001	1430	-1349	-1094	428	-1753	1368	175
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
123(I)	624	-2056	-4727	-4130	-2069	-4088	-2963	2565	3797	1421	-374	-9739	-3337	-3281	-3669	-3229	-2291	-675	-2502	-2285	176
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
124(K)	184	-2420	-870	864	-2723	-1981	637	-2458	2549	-1107	-1515	258	-2673	-184	386	-892	-135	-384	-2812	-1948	177
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
125(D)	-1086	-2570	755	2102	-2887	-233	-702	-2641	579	-2543	-1663	-642	-2127	2335	145	-259	-1028	-2191	-2160	-2060	178
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
126(K)	1143	-2138	-1047	401	2334	-1268	-731	-1897	1391	-845	321	91	-2151	-328	582	-988	-968	-1692	-2368	1901	179
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
127(M)	3169	-2791	-5237	-4626	-1375	-4924	-3668	241	-4272	1751	-3379	-4479	-4487	2634	-4010	-4102	-3045	-1481	-2879	-2882	180
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
128(K)	531	-2467	1672	432	-2787	-1992	842	-2538	1845	-2492	-1956	-597	-2058	784	-60	337	-933	-2089	-2649	1968	181
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
128(E)	606	-2501	1336	1806	-2820	-1977	-651	-2572	350	-2616	-1892	79	-2091	847	-752	-263	1096	-2122	-2684	1958	182
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
130(T)	1443	-2096	-3124	-3207	-4401	-2952	-3317	4200	-3525	-4417	-3519	111	-3045	-3199	-3600	2044	3283	-3122	-4592	-4334	183
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
131(G)	2342	-3617	-1078	-1138	-4177	-3145	602	-3926	852	-3733	3016	937	-3056	-1264	-1378	-2168	-2339	-3491	-3842	3252	184
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 3

145(P)	-777	-3430	-1097	-93	-4238	-2039	-1777	-3989	593	-3923	-3064	-1470	2745	1415	-1541	-2135	-2319	-3430	-3945	-3364	198
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-368	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
146(Q)	-550	-1933	-2864	-2364	-2830	-927	-2070	-2310	-1691	-2546	-1918	-2140	-2867	1874	3417	-1633	-92	1325	-3074	-2717	199
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
147(R)	-968	-3935	-5368	-5739	-3816	-5767	-1482	-3879	-5200	-3188	-3284	-3899	-5127	4036	-4670	-4527	-4855	-4043	-729	-294	200
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
148(S)	-1239	-1212	-2845	-2242	-1184	-62	-1512	-579	1562	38	2631	-2060	2743	1703	-1901	-1745	-1181	1944	-1681	-1320	207
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
149(T)	593	-3227	1964	412	-3513	-2264	3263	-3249	-948	-3231	-2350	1974	-2532	-764	-1529	-462	-1628	-2835	-3408	-2646	202
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
150(U)	-4740	-4445	-5964	-5738	-6131	-3648	-5265	-6903	-6030	-6539	-6235	-5426	-5034	5814	-5624	-5041	-5115	-6133	-5123	-6098	203
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
151(V)	-204	887	46	246	-204	-619	891	-475	338	941	659	281	-354	589	147	-143	7	-471	1260	199	204
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
152(W)	3079	-1981	-4321	-4534	-4368	1735	-3803	-3957	-4337	-4394	-3516	-3010	-3078	-3669	-4093	-1647	-1647	-409	-4864	-4550	205
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
153(X)	1588	-1888	-3888	-3608	2401	773	-3203	-3235	-3632	3629	-2743	-2783	-3003	-3276	-3573	1465	-1739	2586	-3839	-3512	206
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
154(Y)	-1493	-2101	-3952	-4245	-4538	-2355	-3794	-4349	-4195	-4644	-3781	-2936	-3148	-3026	-4010	-557	-3902	-3205	-4753	-4602	207
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
155(Z)	540	-2035	-3002	-2695	-4150	-2245	-2899	-3915	-2988	-4091	-3185	-1991	-2931	-2672	-3128	-2783	1118	-2953	-4296	-3964	208
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
156(A)	-1362	-2783	-2411	-2030	-3450	-2276	-2150	-3137	-1961	-3298	-2470	-2369	2823	-1857	-547	-338	-1614	-2941	-3675	-3147	209
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
157(B)	-1080	-2512	-2844	682	408	-2001	-688	-2563	-200	-2522	1538	1941	-2113	-236	126	73	-1002	-2126	-2701	-334	210
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
158(C)	2203	-1406	-3116	-1761	1179	2422	-1413	-1077	-1508	-1393	-717	1728	1050	-1393	1435	1489	1163	75	-1334	-1529	211
	-149	-500	233	43	-981	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														

Tabla 3

172(M)	-3851	-3703	-6245	-5630	-1436	-5939	-4688	2110	-5449	2475	2823	-5714	-5087	-4281	-4955	5348	3701	-1503	-3471	-3471	225
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	701	1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
173(L)	-2907	-4984	3027	2640	-5031	-2646	-2064	5089	2514	-4917	-4353	575	-3258	-1788	-3527	-2508	-3007	-4525	-5119	-3978	226
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
174(O)	1132	-1695	-4439	-3899	-1856	-3354	-2903	2259	-3592	1435	-900	-3481	-3802	-3276	-3473	-2993	-597	1521	-2395	-2335	227
-	-149	-500	233	43	-381	389	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
175(L)	2228	-1974	4202	-4278	-4460	1838	3635	-4242	-4085	-4491	3558	2025	3038	3671	-3418	523	2255	-3086	-4581	-4557	228
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-245	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
176(R)	692	-1650	-1775	-1189	-1722	-2391	1742	714	2355	-1538	-836	-1336	-2470	-892	-1164	-1364	-1131	634	-2040	-1596	229
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
177(E)	-139	-2706	1195	2572	-3079	-2247	-809	-2780	1335	-2831	-1602	-886	-2327	234	1489	-1200	-388	2360	-2812	310	230
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
178(L)	-3875	-3291	-6254	-5672	-1457	6094	-4687	-834	-5445	3095	1236	-5724	-5089	-4257	-4949	-5349	-3726	117	-3263	-3460	231
-	-149	-500	233	43	-381	389	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
179(G)	-2556	-3114	-2658	-3235	-5039	3885	3752	5315	-4127	-5356	-4624	59	-3784	-3897	-4300	-2703	-2949	-4245	-4010	-4848	232
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
180(A)	2490	-2007	-3784	-3834	4416	2311	-3495	-4197	-3742	-4425	-3503	-2804	-3029	-3419	-1816	1068	-1817	-3076	-4513	-4438	233
-	-149	-500	233	43	-381	389	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
181(L)	-2356	-3954	-686	3689	4280	-2509	-1658	-4076	-137	-5947	-3188	-1202	-2893	287	-1931	-242	-2356	-3617	-4074	-5314	234
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
182(N)	-1197	1816	2024	-1565	-2415	-764	-1594	-14	-1466	-2783	-1518	3436	-2581	-1353	-1820	247	1313	-883	-2896	-2243	235
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
183(V)	-4914	-3889	-5382	-6105	163	-5251	-1486	-3996	-5262	-1015	-3107	-3892	-5106	-4073	-4642	-4507	-4770	3900	-732	-4560	236
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
184(V)	-3382	-3135	-5319	-5407	-3092	-4379	-4923	-1179	-5325	2815	2860	-4809	-4787	-5200	-5168	-4766	-3551	3823	-4638	-4461	237
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
185(F)	245	-1976	-4569	-3655	3673	-3896	-2734	630	-3696	1079	1166	-3542	-3766	-3052	-3855	-3019	2168	266	2502	2075	238
-	-149	-500	233	43	-381	389	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 3

199(D)	-262E	-4493	3630	-795	-4689	-2595	-1881	-4548	78	-4447	-3759	751	-3106	1043	-2149	-2297	-2679	-4074	-4672	-3654	252
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
200(M)	97	-1073	-3318	-2701	-898	-2739	-1606	-412	-2346	1093	8539	2307	2785	467	-2231	-1817	-59	1113	-1534	-1193	253
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
201(K)	-294	-2512	-896	178	-2843	-95	-658	-2584	2469	-2522	1603	266	-2109	522	1551	-954	-990	-2140	-2680	-2014	254
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
202(N)	-204	887	16	216	204	-619	691	-475	338	941	669	281	-334	598	147	-143	7	-474	1280	199	255
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
203(R)	515	-2100	-67	-494	1101	2050	-728	-1947	420	512	-1247	-790	-2139	1766	890	-975	-948	-995	-2386	-1702	256
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
204(E)	1191	-2668	-1633	3281	-3616	-2449	-2074	-2773	1979	3329	-2647	-1665	-2946	-1764	-2429	-1406	-1837	-133	-3820	-3246	257
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
205(L)	-1513	-1884	-2260	-1562	-1940	-2678	-1221	-1499	518	2057	849	-1624	-2718	1781	725	-1719	-1418	-1369	1760	-1802	258
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
206(O)	-745	-4362	3177	2316	-4570	-2552	-1843	-4464	-1204	-4345	-3627	-1146	-3050	-1496	-2798	-856	-2573	-3948	-4537	-3568	259
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
207(I)	-1159	-2582	-184	438	2895	2097	3182	-2638	-245	-2591	-1678	2184	-2194	1039	1482	-1040	-1082	-2210	1571	-2082	260
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
208(M)	-687	-1277	-3818	-3186	164	-3048	-1914	1188	-2791	1720	3182	-2684	-3054	-2973	-2501	-2141	-1411	370	-1706	1039	261
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
209(A)	2603	-2502	-1660	-1121	3271	74	-1238	-2944	508	-2930	-2076	-1300	-2572	-623	1589	-500	-1483	-7485	-3089	-2569	262
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
210(E)	-254	-2474	-853	1581	-2798	-1977	-630	-2545	1166	-2488	-1564	387	-2070	471	2128	-309	337	-2098	2652	-1976	263
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
211(F)	948	-1050	-3245	-2644	3398	698	1571	28	2300	-801	1472	-2239	-893	-1973	-2197	-1775	-1113	-475	-1528	-1174	264
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
212(F)	2629	2312	-1814	-4321	2777	-4278	-2862	869	3964	1977	2864	-3882	-4058	3300	3668	-3416	-2538	-122	-2251	-119	265
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-628	210	-466	720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-

Tabla 3

226(G)	624	-1134	-2636	-2059	-1134	2287	-1369	-189	-181	555	-355	-1900	406	-1582	-1898	-1575	-498	-578	-1599	672	279
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	701	-1378	*													
227(G)	-1134	-2497	-1028	-462	-2811	-2101	-720	-622	101	-2489	-1598	278	-1086	2837	1581	-1029	1381	-2117	-2667	-2040	280
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
228(F)	-3742	-3197	-6088	-5438	-3690	-5732	-4235	207	-5233	1117	-1544	-5389	-4553	-4113	-4759	-5019	-3594	-1653	-3024	-2977	281
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
229(L)	1551	-2658	-4811	-4712	-2094	-3608	-3887	-1436	-4392	2837	-1008	-3989	-4022	-3904	-4164	-3002	-2754	-1827	-3457	-3347	282
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
230(U)	-3359	-2829	-5947	-5421	-1855	-5595	-4779	3551	-5239	1256	-646	-5322	-5043	-4488	-4999	-4988	-3295	-533	3603	-3556	283
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
231(E)	-4894	-4877	-3044	-2916	-5916	-4252	-4190	-6541	-4563	-6183	-5913	-3747	-4767	-4175	-4894	-4792	-5049	-6107	-5083	-5486	284
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
232(T)	-5161	-4627	-5479	-5844	-6102	-4639	-5374	-6971	-6053	-6538	-6341	-5638	-4316	-5917	-5641	-5486	-5496	-6390	5102	6043	285
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
233(K)	-4797	-4587	-4892	-4321	-5682	-4474	-3615	-5979	-5079	-5471	-5024	-4244	-4783	-3408	-2493	-4857	-4726	-5584	4639	-5025	286
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
234(P)	-573	-2936	-4047	-4375	-4929	-2842	-4112	-4853	-4533	-5052	-4279	-3196	-4195	-1192	-4369	-2335	-2546	-3772	4881	-1956	287
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
235(K)	-1854	-3064	-1724	-1121	-3577	-2674	-1100	-3136	-2701	-3003	1908	2081	-2743	1568	-404	-1736	-1732	-2775	-3052	-2601	288
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
236(E)	-4894	-4877	-3044	-2916	-5916	-4252	-4190	-6541	-4563	-6183	-5913	-3747	-4767	-4175	-4894	-4792	-5049	-6107	-5083	-5486	289
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
237(P)	-5161	-4627	-5479	-5844	-6102	-4639	-5374	-6971	-6053	-6538	-6341	-5638	-4316	-5917	-5641	-5486	-5496	-6390	5102	6043	290
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
238(T)	-1947	-2421	-3166	-2413	-2678	-2830	-1827	-2467	-892	-2555	1753	-2947	-3160	-1548	2098	-2128	3184	-2270	-3058	-2755	291
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*													
239(K)	-484	-2386	-1045	-493	-2703	-1249	-755	-2101	-2160	-2412	378	778	2191	560	730	1027	906	-2018	-2628	-2010	292
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	

Tabla 3

253(M)	-204	887	46	246	-204	-619	661	-475	338	-941	653	281	-334	588	147	-143	7	-471	1260	199	306
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	264	249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
254(L)	-384	-3041	-8020	-5075	-1547	-5724	-4559	2056	-5257	2850	1509	-5420	-4885	-4234	-4854	-5036	-3464	85	-3297	-3428	307
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
255(O)	-1021	248	260	920	-2812	-1980	1097	-2568	2005	-2459	-1576	-625	-2082	2158	905	-901	-958	-2111	-2661	-1987	306
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
256(Q)	-387	-2464	-816	789	-2765	-1228	628	-2533	1689	2478	-1654	-607	-2064	1818	125	-280	1845	-2086	-2545	-1968	309
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
257(Y)	4615	-3726	-5293	-5520	1956	-5121	2665	-3552	-5082	1275	-3001	-3826	-1894	-3925	-4517	-4347	-4486	-5888	-731	3738	310
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
258(G)	-747	-4382	2188	1513	-4595	-3378	-1856	-4494	-2029	-4373	-3658	909	-3058	-1510	-2835	-2220	-2589	-3973	-4586	-3588	311
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
259(L)	-2849	-3066	-3826	-2175	-2395	-3684	902	-2487	-628	2888	-1855	-2844	-1645	-1532	1820	-2897	-2850	-2387	-2707	-2185	312
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
260(D)	-188	-2552	-2320	1252	-2865	-682	-702	-2615	533	-2565	328	-642	1396	-249	-820	-966	36	-2170	-2738	-2050	313
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
261(K)	-1509	-3080	1864	1703	-3356	449	-1058	-3134	2145	-3064	2175	56	-2431	967	-1320	-1342	-1471	-2672	-3234	-2495	314
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
262(H)	-1002	-2060	1504	952	-2245	-2050	1617	-504	395	-182	481	-787	-2139	-338	266	-25	38	804	-2445	-1579	315
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
263(F)	-2339	-2542	4828	-4518	3656	-4337	-1860	649	-4141	-1500	-1381	-3680	-4252	-3447	-3825	-3484	-2868	481	-1216	1328	316
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
264(K)	-3285	-3787	-3212	-3058	-5220	1761	-2834	-5042	3532	-4797	-4163	-3047	-4023	-2528	-1831	-3329	-3400	-4504	-4367	-4430	317
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
265(L)	-3149	-2690	-5597	-5034	1255	-5177	4100	997	-4810	2411	-428	-4847	-4705	-4033	-4515	-4417	-3061	1824	-3171	-3136	318
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
266(N)	-4313	-4359	3728	-4033	-5358	-4190	-4024	-6344	-4850	6082	-5725	4411	4732	4593	4904	4442	4627	5680	4872	5085	319
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 3

280(E)	983	2863	676	2871	-2841	1881	2018	2386	-241	2882	390	634	-40	1841	-139	884	426	-384	-2572	-1915	333
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
281(H)	-3635	-1141	-2481	-2026	-2897	-3682	-3257	-4886	-2082	-4514	-4107	-2763	-4095	92	2165	3225	-3077	-4376	-3303	-2435	331
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
282(E)	310	-2317	523	-3226	-4681	1289	-1926	-4585	-2138	-4453	-3755	-1193	-3092	-1580	-2961	-2255	2635	-4020	-4849	-3668	335
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
283(I)	3108	-2694	-5687	5258	2040	5447	-4789	-2987	5127	2204	803	5121	-4873	4528	-4983	-4783	-3057	1098	-3762	-3679	339
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
284(F)	1920	-2801	-1080	241	-3166	-2275	-912	-2874	-337	-2798	-1918	688	-2397	509	2445	-1200	-1343	-2456	-2934	-2321	337
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
285(O)	-1118	667	-3256	-2655	296	-2643	-1503	-468	-2274	-824	1432	-2219	-2695	-2062	-2148	-1719	1528	1807	-1431	1003	338
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
286(A)	3647	2998	-4748	-5032	5144	-3219	4514	-5091	-5004	-5303	-4637	-3890	-3954	-4141	-4797	-2812	-3007	-4128	-4931	-5200	339
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
287(B)	-438	-1218	-2385	-1792	-1208	-2507	-1291	204	277	1082	-410	-1737	2359	-1350	-2622	-410	1068	702	-1547	1286	340
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
288(I)	180	-1750	1481	940	-1841	-2159	-865	977	-613	-920	906	114	-2242	-585	-1063	1106	370	409	-2833	78	341
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
289(H)	1869	-1372	-1935	-1371	128	-2386	-2326	-951	-1207	263	-557	1380	-2458	-1059	-1489	-478	-1037	-822	-1723	-344	342
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
290(G)	2802	-4486	1036	201	4670	3031	-1811	-4579	363	4749	-3755	1477	-3990	-1551	-2902	-2272	-2658	-4058	-4541	-3646	343
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
291(M)	251	-1182	-3887	-2773	-1077	-2861	-1716	431	1723	1291	-2513	-2402	-2886	-2100	-2325	-1930	-1249	891	-1846	-1306	344
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
292(L)	-1115	-3482	-6205	-5777	1056	-5961	-3943	-1082	-5536	-3335	-370	-5642	-5143	-4238	-4987	-5397	-3959	-1832	-2773	-2309	345
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	9354	884	-1115	-701	-1378*														
293(C)	-2777	-2893	-4388	-4159	2868	-2268	2287	-2772	-4284	-1129	-3377	-3641	-4076	-3728	-4048	-3027	-3020	-2749	-369	-249	346
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	

Tabla 3

307(W)	-4933	-4706	2215	3821	-3002	-4386	-3866	8001	-4863	-5555	-5403	-6024	-4604	-4104	-5027	-4890	-5088	-5755	5637	-3183	360
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
308(D)	3069	-4812	3638	-1083	-5072	-2828	-2301	-5194	-2854	-5012	-4488	-1476	-3411	2454	-3523	-2710	-3180	-4638	-5009	-4074	361
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
309(T)	-1461	-1742	1783	-1718	-1846	-2872	-1664	872	-1708	-1478	887	-1809	-2839	-1948	-2007	-1775	-2886	-761	2357	-1930	362
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
310(D)	-3546	-4222	3684	-2153	-3783	-3505	-3081	-3676	-3519	1330	-3277	-2487	-4027	-2939	-4117	-8445	-3684	3809	-4915	-3781	363
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
311(E)	-1512	-2828	-1244	2437	-3182	-2375	-859	-2865	-303	-2809	-1942	-1024	-2492	2305	1159	-1395	-1429	514	-2834	-2384	364
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
312(F)	-4608	-3778	-5235	-5513	-4383	-5055	-1485	-3725	-5109	-3128	-3164	-3822	-4892	-3954	-4550	914	-4537	-3840	748	1588	365
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
313(P)	-1888	-2446	-3444	-4185	-1827	-3530	-4084	-780	-3831	-3019	-3618	-3530	-3731	-2122	-2300	-3299	-4374	-4144	-249	366	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
314(T)	-273	-2001	-1163	-623	-2217	-2086	1932	12	-526	-2018	-1201	1155	-1083	-465	-983	551	-2438	-1582	-2356	-1797	387
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
315(D)	-1847	-3447	2928	425	-3721	-1133	-1341	-3520	-1177	-1150	-2603	1047	-2659	-327	-1790	212	-1833	-3055	-3636	2845	388
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
316(V)	-1151	-1254	1271	-1753	-1247	-2524	-1330	1068	-1572	1200	-440	694	-2581	89	-1758	-1535	-1093	1816	-1703	-1314	389
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
317(O)	-1131	-1223	-2358	151	-1178	-2505	-1285	128	-1515	1083	-410	-1700	-2563	-1365	-371	-327	-1070	653	-1828	-3372	370
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
318(E)	-86	-2443	1230	1937	-2798	-1957	-618	-2508	514	-1253	320	-584	-2050	-158	115	620	475	-2062	-2629	-1949	371
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
319(T)	1585	-1443	-1997	-1450	-1582	-2339	-1262	-37	-1291	-222	-725	1400	-2485	-1158	-1581	-309	-2133	-863	-947	-1528	372
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													
320(T)	1918	-1865	-4124	-6033	3657	2268	-3315	2998	3763	-3672	-2111	-2880	3018	3897	8948	-371	3024	789	-3827	-3691	373
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-8354	894	-1115	-701	-1378*	*													

Tabla 3

334(G)	-771	-1114	-1327	-1503	-2474	3336	-1576	-2519	-1737	-2829	-2097	-1339	-1788	-1608	1805	971	-1107	-1936	-2208	-2283	367
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	118	-369	-294	-249	
-	-1217	830	-7094	156	3286	-3231	-162*														
335(P)	927	-1231	-1366	-1466	-2201	-1324	-1470	-2177	-1504	2284	-1843	-1319	3787	-1487	-1868	-1148	-1229	-1796	-2061	-2037	389
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	33	6052	-7094	-894	-1115	-2145	-370*														
336(G)	1364	-1175	-595	-238	-2059	1778	-486	-1725	1105	-1853	-1038	-370	-1543	-134	-464	-352	-421	-1271	2125	-1610	390
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-21	-6683	-7725	-884	-1115	-1113	-3725*														
337(Y)	923	-2098	-152	-480	-2282	773	-737	-1954	123	2086	-1265	-765	927	341	-870	977	771	-667	-2376	-2237	391
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
338(T)	-580	-2454	-27	443	-2775	-1955	675	-2525	1003	-2470	-1543	140	1222	782	953	43	1528	-2078	-2637	-1955	392
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
339(G)	-4740	-4448	-5864	-5738	-6131	3840	-5265	-4903	-8030	-6539	-6235	-5426	-5034	-5814	-5624	-5041	-5115	-5153	-5123	-6089	393
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
340(G)	-2931	-3331	-4304	-4658	-5620	3378	-4536	-5732	-5076	-5740	-5043	-4038	2291	-4709	-4801	-3171	-3373	-4635	-5035	-5488	394
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
341(L)	-1644	-1488	-3782	-3157	438	-3201	-2041	710	2752	2206	-223	-2773	-3187	-2389	1799	-2291	253	-897	-1864	-1566	395
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
342(N)	-3133	-4000	-1625	-1838	-3244	-3217	3075	4941	-2575	-4694	-4212	3945	-3753	-2478	-2897	-2936	3288	-4437	-3500	-2686	396
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
343(F)	-5308	-4470	-5610	-5849	-4547	-4821	-3048	-4656	-5052	-3892	-4112	-4895	-5217	-5110	-5315	-5383	-5399	-4866	-2341	-1279	397
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
344(D)	-3580	-4594	-3015	-1825	3014	-3354	-2623	-5167	3385	-4804	-4354	-2168	-3308	-2692	4098	3307	-3726	-4804	-3495	737	398
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
345(A)	3919	-2001	-3678	-3337	863	-3026	-1788	-1924	-3083	-2118	-1587	2743	3653	-2103	-3034	-485	-2005	-1776	-1454	-913	399
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
346(K)	-3437	-3998	-3427	-2630	-4447	-3747	1328	-4350	3785	3686	-3350	-2554	-3006	-1483	-516	-3312	-3161	-4115	-3603	-3389	400
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*														
347(V)	467	-1371	-3451	-2835	-1595	-2710	2080	-662	-2633	-346	783	-2500	2276	-2347	-2594	-1872	718	-2313	-2129	-1779	401
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	

Tabla 3

36(A)	2488	-1833	-9530	-3280	392	3137	-2915	-3137	3094	-9410	-2609	-2570	-2829	-2839	-3197	1570	-155	-2487	3780	-3478	415
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	279	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
362(H)	1671	-2732	-3104	-3318	-3618	-4439	-4900	-4439	-3288	-4609	-3848	-2849	-3546	-3299	-3341	-2352	-2540	-3629	-3930	-3278	416
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
365(I)	312	-1510	-2001	-2753	-3531	-4414	-5370	-4414	-3036	-4056	-3145	-2057	-2878	-1575	172	-1891	-1390	28	-202	-1655	417
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
367(A)	2924	-1653	-4264	-4278	1795	3863	4116	-4288	-3398	-2940	-3040	-3040	-3040	3890	3877	484	1804	-87	-454	4398	418
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
368(C)	440	2795	-4017	-4184	-4414	-4624	-4844	-4182	-4094	-4444	-3530	1340	-3059	-3662	-3947	-1624	-1828	-3066	-4648	-4508	419
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
369(M)	3439	-3070	-6845	-5292	-1686	-5048	-4285	177	-4844	382	5058	-5009	-4816	4199	-4559	-4480	-3429	-1290	-3283	-3151	420
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
367(D)	-2500	-3942	3572	-1015	-4596	-2839	1974	-4469	-1888	-4357	-3533	-1359	-3145	-1638	1771	-503	-2599	3914	-4464	-3654	421
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-284	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
368(T)	1100	-1830	-2203	-1732	-2569	-2230	-1735	-2187	-1612	-2425	2082	435	2620	-1485	-1953	1109	2968	-1840	-2841	-2389	422
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
369(Y)	4358	3577	5299	-5430	3019	-5078	-1573	-2861	5006	-1623	2952	-3669	4023	-3893	-4168	-4208	-4237	-3252	-830	-3643	423
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
370(X)	3106	-2360	-4425	-4439	-2714	-3005	-3693	-1976	-4125	1368	-1782	-3498	-3016	-3736	-3953	-3396	2377	-2053	-3726	-3405	424
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
371(R)	722	-1126	-2900	-2287	-1035	-2845	-1470	1035	-567	1406	-311	-2061	-2701	-1716	-1939	-1706	-1121	435	-1583	-1225	425
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
372(G)	1248	-1888	-3901	-3776	-3523	-2175	-3123	-3143	-3626	1237	-2635	-2780	-3011	-3264	-3555	-677	-1747	2517	-3984	-3627	426
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
373(L)	-2143	-2281	-3312	-2427	697	-3288	-1645	-1581	1855	-2371	-1056	-2323	-3278	-1406	360	-2446	-2014	-1662	-2346	-1935	427
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
374(K)	-1243	-2662	-484	-864	-3023	-2175	770	-2741	2287	-1301	-1757	-811	-2263	491	1587	-1121	-1167	2309	-2789	-2166	428
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 3

383(N)	10 9	-961	-3469	-2834	1400	-2682	-1552	1329	2431	1012	1488	-2324	-7730	-2055	235	-1783	-1074	894	1670	-1077	442
	-149	-500	233	43	381	388	106	876	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
383(M)	-149	-500	233	43	381	389	106	826	210	-458	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	443
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
390(A)	107	-2465	567	1273	-2807	-1975	-640	-2557	1276	-2501	-1576	-610	-2073	413	728	-291	-953	-2108	-2657	-1985	444
	-149	-500	233	43	381	388	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
391(E)	107	-2465	567	1273	-2807	-1975	-640	-2557	1276	-2501	-1576	-610	-2073	413	728	-291	-953	-2108	-2657	-1985	445
	-149	-500	233	43	381	395	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
392(R)	73	-2800	-1762	-1095	-3205	-2581	-1058	-2829	785	-2778	-1584	-1282	-2658	-303	322	417	-1588	-2485	-2901	-541	446
	-149	-500	233	43	381	396	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
393(Y)	2721	-3376	2973	2151	3188	-727	-1493	-3439	891	-3278	-2619	-2128	-3405	-1166	800	-2667	-2523	-3217	-2977	-4298	447
	-149	-500	233	43	381	396	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
394(A)	285	-2377	-872	585	-2584	-1977	-633	-2390	505	-788	-1475	-626	-2069	1284	427	1071	-929	395	-2590	-1920	448
	-149	-500	233	43	381	396	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
395(E)	131	-2423	336	368	-341	50	762	2481	388	-2470	-1581	713	-2161	-325	-800	-2678	-324	-2059	-2698	-2031	449
	-149	-500	233	43	381	396	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
398(F)	3512	-3503	10	1305	-3278	-4328	-1411	-3102	-3530	-2820	-2586	-3109	-4323	-3009	-3565	-3461	-3428	-3094	3031	2790	450
	-149	-500	233	43	381	396	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
397(D)	-990	-2441	1336	-290	-2754	-1964	-625	-2498	1161	389	-1533	1125	-131	-168	2	-164	557	-2058	-2630	-1953	451
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-370	-295	-250	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
398(E)	-84	-2457	-258	-1626	-2777	-455	-617	-2577	254	-2472	-1548	-583	-2051	799	115	1531	906	-2078	-2640	-1956	453
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
398(G)	-1414	-2478	1080	1358	-2587	-2543	-1295	-2678	-1035	-762	-1957	-1125	1149	921	-1515	-1387	-149	-2292	-3059	-2463	454
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
400(I)	128	-1033	-3266	-2651	-1007	-2701	-1589	-2545	-778	400	-238	-2262	-914	-1978	-2187	-1777	1346	618	-1515	-1166	455
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
401(G)	129	-2082	-3816	-3056	-3724	-3259	-3484	-3214	-3664	847	-2809	-2838	-3158	-3542	-3752	-1708	-1933	-2674	-4165	-3918	456
	-149	-500	233	43	381	369	106	-626	210	-465	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Table 3

413(L)	-78	-1139	-2558	1987	-1115	2532	-1344	-133	-1091	2123	-330	-1845	2594	221	1015	-484	-1055	439	-1577	-1205	470
-	-149	-500	233	43	-381	399	105	828	210	-400	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
416(E)	1511	1129	-1595	-1751	-1576	-2289	999	1157	-900	-416	-704	-1196	-2339	-197	-1260	667	-49	-278	-1911	36	471
-	-149	-500	233	43	-381	399	105	828	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
417(K)	1530	-2471	-17	1044	2791	-1963	-628	-2542	-1572	-2487	-1461	676	-2060	1100	-720	173	-45	-2093	-2654	-1971	472
-	-149	-500	233	43	-381	399	105	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
418(Y)	-3642	-3323	-4353	-3990	2403	4461	1728	-3720	-855	-2839	-2606	-3760	-4404	-2976	133	-364	3524	3122	-870	4083	473
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-456	-720	275	394	45	88	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
419(A)	2435	-1847	-679	009	-1996	-901	-1033	1094	847	-1803	-1059	-1085	-2363	-746	-1268	-1239	-1109	-542	-2252	-1747	474
-	-149	-500	233	43	-381	399	105	828	210	-456	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
420(E)	67	-2239	224	3416	-452	709	-673	230	575	966	-1361	-680	-2095	263	-785	-91	-453	-1814	-2476	-1850	475
-	-149	-500	233	43	-381	399	105	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
421(D)	-160	-2437	1202	1064	1123	-1950	-619	-2495	267	-867	-1328	1077	-2052	1118	-708	595	-921	-2054	-2625	-70	476
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
422(H)	966	-2410	1343	-303	-2711	-1968	-2413	-66	1142	-544	-1505	1346	594	-174	-432	-876	-284	-2021	-2605	-1935	477
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-7	-8312	9354	894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
423(N)	209	-2403	-80	227	-2718	589	-404	2465	586	-861	708	-803	710	802	606	242	2	-673	-2589	-1910	478
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-110	-8247	-3828	-894	-1115	-1040	-901	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
424(Q)	887	-2330	1492	-492	-2638	-585	699	-431	-111	-450	-1423	-504	-1858	1578	-617	-233	439	-1945	-2521	-1040	479
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-848	-8144	-1181	894	-1115	-1434	-667	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
425(A)	2076	-2279	957	892	-2676	-1567	-534	-2428	-295	-2418	-1580	-263	-1843	-126	852	1085	-887	-1985	-2530	-1917	480
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-942	-7310	-1080	894	-1115	-2708	-239	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
426(E)	-381	-1604	25	1832	-1759	-1234	69	-1535	1212	-1562	-736	96	-1392	470	131	-287	-318	-1195	-1742	1116	481
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-246	-6394	-2706	-894	-1115	-3145	-173	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
427(L)	-1340	-1019	-3303	-2798	-110	-3122	-2028	1936	-2461	2091	968	-2637	-2074	-2039	-2380	-2319	-1277	781	-1493	-1288	482
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-30	-6178	-7720	-894	-1115	-1475	-643	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
428(A)	966	-971	-927	64	-1028	-1637	388	796	-296	-251	-142	675	-1717	-142	613	-33	-383	557	-1348	-882	483
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	828	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-

Tabla 3

442(L)	-1684	-1461	-3911	-3503	-1234	-3269	-2179	-1310	-2938	-2258	330	-2895	-3277	-217	-2765	-2389	1516	294	-1986	-1667	-497
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
443(O)	1368	-1560	-4150	-3774	339	-3691	-2667	1896	-3436	1384	-620	-3337	-3648	-3052	-3789	-2871	-1888	1594	-2412	-2086	-498
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
444(N)	-429	-1301	-2265	1692	-1310	-2510	-1317	965	-1486	-1142	1274	-3200	-2363	290	-1696	-1534	-1102	282	-1758	-1363	-498
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
445(H)	-889	-2462	1140	1287	-2782	-1856	2073	-2533	202	-2477	1021	76	-2054	1813	414	304	920	2083	-2645	-1962	500
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
446(Y)	-570	-3615	-4109	-4218	-224	-4379	3141	-3593	-3874	-3148	3048	3397	-4538	-3140	-3721	-3699	-3033	-3557	-932	-638	501
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-7	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
447(L)	-2249	853	-4575	-3952	-1251	-3905	2751	1774	-3688	-2535	1585	-3549	-3766	-365	-3344	-3078	-2171	-949	-2320	-2132	502
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-183	-8312	-9354	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
448(F)	-1766	-1521	-4120	-3513	-846	-3413	2936	1109	-3142	1880	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	503
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-152	-6137	-3370	-894	-1115	-1456	-652	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
449(C)	-169	-2301	1066	908	-2620	-3545	453	-2372	447	-2316	-1361	848	-1895	562	351	31	765	-1922	-2484	-1799	504
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-149	-7993	-3412	-894	-1115	-1636	-473	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
450(A)	384	-1474	-1057	582	-1568	-1885	-607	94	456	-1390	-605	-723	-1980	310	804	-19	849	1219	-1821	-1317	505
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-253	-7863	-2378	-894	-1115	-2104	-392	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
451(F)	-58	1062	-1873	-1209	-913	-2052	-947	394	-1021	1151	91	208	-2122	-888	-2353	-1078	-655	-237	-1248	-861	506
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-369	-7612	-2106	-884	-1115	-2433	-295	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
452(G)	887	-1478	-559	-11	-1592	-3139	-219	-1235	94	488	-578	661	-1615	151	428	120	-400	-868	-1734	-343	507
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-286	-7258	-2484	-894	-1115	-2747	-233	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
453(K)	359	-1852	-165	1529	-2187	-1348	-26	-1905	-1358	-1880	-953	11	-1461	1094	-76	506	-357	-1473	-2335	-1367	508
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-1078	-836	-8022	-95	-3976	-125	-3592	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
454(W)	204	887	46	246	-204	-819	881	-475	338	-941	650	291	-384	598	147	-143	7	-471	-1263	199	510
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-186	-3224	-9354	-1658	-590	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
455(W)	-204	887	46	246	-204	-819	881	-475	338	-941	659	291	-384	588	147	-143	7	-471	-1263	199	516
-	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	466	-720	276	394	45	96	359	117	-365	-294	-249	-
-	-186	-3224	-9354	-1658	-590	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 4

HMMER2.0 [2.2g]
 NAME IDA_exp_ver_seqs_ain_new
 LENG 253
 ALPH Amino
 MAP yes
 COM /app/public/hmmer/current/bin/hmmbuild rpA_exp_ver_seqs_ain_new_hmm rpA_exp_ver_seqs_ain_new.ain
 COM /app/public/hmmer/current/bin/hmmcalibrate rpA_exp_ver_seqs_ain_new_hmm
 NSEQ 15
 DATE Sat Jan 16 09:55:05 2010
 XT -8455 -4 -1000 -1000 -8455 -4 -8455 -4
 NULT -4 -8455
 NULE 595 -1558 65 398 -294 453 -1158 197 249 902 -1085 -142 -21 -313 45 531 201 394 -1968 -644
 EVD -207.921417 0.1593312

HMM	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y	
	m->n	m->l	m->d	p->m	l->l	l->n	d->d	d->n	m->e												
1(P)	-230	-737	-776	-2336	-1756	-665	-2165	-1015	-734	-1488	712	69	-1565	2083	-1248	-544	305	-688	847	-1150	1747
-	-149	-500	233	43	381	398	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-11	-7657	-8699	-894	-1115	-701	-1378	-230	*												
2(E)	-893	-2357	-337	-1937	-2694	686	-508	-2450	-183	-2405	-1508	-359	1381	1237	-689	490	-857	-2002	-2585	-1884	
-	-149	-500	233	43	-301	399	106	-628	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-11	-7657	-8699	-894	-1115	-701	-1378	*													
3(T)	776	-1568	-848	-2599	-1788	-1722	-484	-1424	-182	-181	-788	-539	400	400	-126	1155	629	1334	-1155	-1948	-1403
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-164	-7657	-3284	-894	-1115	-701	-1378	*													
4(M)	-722	-907	-1742	801	-904	-2057	841	-449	-988	571	-2667	-1199	409	409	-831	-1222	254	-664	1038	-1329	-929
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*													
5(M)	-854	-1678	-1050	768	-1792	350	-656	-1412	-383	838	-1786	1317	-2043	938	-629	-694	-694	-793	175	-2001	-1473
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-8	-8026	-9069	-894	-1115	-701	-1378	*													
6(M)	1489	-1440	-2497	-1813	-1434	-2652	-1456	-980	-1588	1053	-3123	713	-2731	-1485	475	-1692	-1258	-881	-1874	-1492	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8494	-8536	-894	-1115	-701	-1378	*													
7(P)	-1584	-2285	-2925	-2973	-4301	-2437	-3074	-4165	-3104	-4324	-3438	781	-2688	-2852	-3344	1622	2304	-3192	-4531	-4184	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8494	-8536	-894	-1115	-701	-1378	*													
8(O)	-1529	-1398	-3629	-2918	-1266	-3053	-1906	710	-2581	1247	2483	397	-3068	-2819	-2401	-2127	-1468	501	-1851	-1517	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-8649	-894	-1115	-701	-1378	*													
9(D)	-3187	-6228	-2890	2718	-5370	-2929	-2394	-5371	-2804	-5200	4838	-1518	637	2077	-3812	-2793	-3290	-4804	-5388	-4766	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-8649	-894	-1115	-701	-1378	*													
10(E)	-2442	-4168	1948	-2627	-4408	189	-1849	-4252	-1870	-4154	-3356	-1303	-3115	1028	-2521	981	-2456	-3759	-4336	-3463	
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	

Tabla 4

	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
25(D)	-2501	-4054	2742	-1070	-4562	-2747	-2018	-4408	73	-4325	3580	1428	282	-1657	-2895	2457	-2667	-3671	-4505	-3648
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
26(G)	-3037	-4879	844	1122	-5168	3243	198	-5175	2686	-5034	-4423	806	-3169	-2028	-3602	-2695	-3747	-4601	-5204	-4136
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
27(M)	-1489	2073	-3003	-2471	-2046	-2861	-1894	-1566	409	-1917	4812	-2465	-2961	-2007	-7188	-161	1213	-1418	-2455	-2088
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
28(V)	-2412	-2097	-4785	4276	-2457	-4302	-3498	2310	-3835	-1736	-1426	-3927	-4279	-3726	1385	-3485	351	2853	-3372	-2380
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
29(I)	-2608	-2288	5253	-1805	-2613	12	-4182	2653	-4539	985	-1484	-4176	-7685	-4347	-4561	-4044	-2671	2370	-3604	-3421
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
30(G)	-5248	-4846	-5405	-6182	6621	3948	-5630	-7348	-6455	-8931	-6666	-5991	-5413	-6249	-6011	-5568	-5614	-6629	-5452	-6497
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
31(L)	37	2467	5917	-4944	-2323	-4975	4248	1048	-4728	2892	-1160	4643	4761	-4320	-4618	4207	-2845	1769	-3670	-5419
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
32(C)	-5249	-4846	-5805	-6182	-6321	3648	-5669	-7348	-6455	-6931	-6666	-5991	-5413	-6249	-6011	-5568	-5614	-6629	-5452	-6497
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
33(I)	-1742	-2355	3358	3587	-4782	-2578	-3671	-4600	3940	-4815	-3808	840	-3343	-3568	-4000	1238	3538	-3495	-4970	-726
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
34(G)	-2151	-2733	-4415	4752	-5231	3632	-4392	-5148	-4912	-5359	-4485	-3619	-3798	4172	-4662	-2409	608	-3930	-5223	-5307
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
35(S)	-2873	-3334	-4781	5130	-5373	-3522	-4723	-5714	-5297	-5786	-5056	-4188	-4255	4941	-5056	-3723	-3329	-4360	-5178	-5309
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
36(T)	-3493	-3798	-5272	-5803	-5670	-3975	-5053	-5607	-5594	-5903	-5376	-4752	-4656	-5388	5298	-3760	-4969	-4969	-5264	-5668
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													
37(A)	-2501	-2145	-4936	-4524	-2662	-4036	-378	1043	-4277	-1902	-1807	-4013	-4259	-4022	-4221	-3241	283	2230	-3629	-3236
	-149	-500	233	43	-361	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378*													

Tabla 4

38(A)	1799	-1743	-1181	624	-2445	-1173	-1434	1352	-1698	-92	288	-2926	-945	436	-1413	-1196	336	-2161	-1597	36	
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-526	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
39(H)	-4506	-3790	-5387	-5470	1683	-5200	-3864	3584	5055	289	-3093	617	-4051	-4592	-4400	-4398	-3664	-1018	3509	39	
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
40(F)	1996	-1692	-4234	-3615	-2418	-3501	-2380	878	-3235	314	1798	3149	-3486	-2808	-3032	-2803	1303	-2141	-1841	40	
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
41(V)	101	-2020	-4873	-4368	-2350	-4322	-3494	2224	-4095	-23	-1334	-3975	459	-3818	-4011	-3497	-2359	-2706	-3265	41	
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
42(D)	-199	-2647	-1670	1649	-2967	-2145	-606	-2716	613	-566	-1737	777	-2240	-347	505	732	-1114	-2269	-2831	-2148	42
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
43(R)	551	-2283	-1313	1080	-2461	-2298	-969	-2110	-600	-480	-1419	-1024	2387	-583	-2635	-1294	447	-1629	-2558	937	43
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
44(I)	-4159	-3553	-6555	-5999	-1742	-6359	-5051	-2593	-5794	2452	1876	-6079	-5396	4572	-5288	-5733	-4007	-1733	-3572	-3789	44
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
45(C)	946	-3028	689	-1058	-3786	-2828	-1624	-3558	551	-3534	-2935	-1340	-2817	-1217	-1911	614	-1831	-3015	-3719	-3026	45
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
46(Q)	-1298	-275	-1122	1954	-3088	-2249	-885	-2826	726	-2768	1843	1435	-2342	-2103	593	-1176	830	-2383	-2910	-2251	46
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
47(R)	283	-1953	-1663	-1097	-2055	115	-1074	-1648	625	1378	-1117	-1278	-2505	783	-1948	-1413	-1239	-1458	-2268	1170	47
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8627	-9469	-894	-1115	-1600	-578	*													
48(L)	-2911	-2569	-5151	303	1145	-4652	-3420	1605	-4248	-2528	332	4289	-4351	3576	-3981	-3811	-2817	-1280	-2759	-2609	48
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8627	-9469	-894	-1115	-1600	-578	*													
49(K)	-1564	-2916	-1478	645	-3330	-2470	1776	-3005	-2205	-2887	-2013	-1108	-2537	1193	2170	-71	-1467	-2584	-2975	-2424	49
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8627	-9469	-894	-1115	-333	-2777	*													
50(M)	651	-2037	567	1684	-2956	-2140	-799	-2705	-380	-2652	1618	777	-2234	670	563	217	437	-2258	-2821	-2139	50
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
51(W)	-246	982	39	198	-144	-596	928	-456	289	-854	709	281	-245	575	131	-180	-17	-477	368	255	51
-	-145	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	394	45	96	359	117	-369	-294	-249		
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													

Tabla 4

52(G)	-1840	-3980	-1006	1266	-3716	2571	-1423	-3480	1230	-3415	-2544	-1185	523	-1002	1504	-140	1825	-3009	-3580	-2871	52
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-794	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
53(K)	-2019	-3475	-1064	1977	-3602	872	-1515	-3655	2684	-3564	2713	-1281	-2882	-1009	-1547	2*4	-1995	-3192	-3702	-3015	53
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
54(L)	-2125	-1533	-4188	350	979	-3693	-2514	1351	-3240	2408	-450	-3247	-3638	472	-3100	-2790	-2053	-1108	-2268	-1993	54
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
55(K)	169	-2664	-1050	285	-2852	-2157	1513	583	1919	-2566	-1962	-805	2249	692	-913	147	683	-2169	-2757	906	55
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
56(D)	-2633	-4816	-2703	1104	-4766	1497	-1872	-4720	-2192	-4570	-3939	2177	-3037	-1549	3116	-2268	-2714	-4175	-477C	-3697	56
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-8	-8162	-5204	-894	-1115	-201	-2945	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
57(I)	-1788	-1923	-2876	-34	-2012	-3091	-1729	2383	148	-1745	-1130	2188	3132	1628	630	-2165	-1708	2312	-2394	-2024	57
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
58(V)	950	-1303	-3775	-3161	749	481	-1956	1236	-2782	-1142	-531	-2677	-3091	-2425	-2614	-2129	478	2313	-1940	-1493	58
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-254	-8808	-2657	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
59(G)	1087	2397	-4641	-4894	-6022	3072	-3854	-4394	-4563	-4693	-3717	-3098	-3108	-4043	-4241	663	-1876	-3167	-4840	-4782	59
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8039	-6402	-894	-1115	-232	-2492	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
60(V)	-3033	-2923	-6726	-5424	-3217	-5556	-6699	2753	-5400	-1951	-1904	-5240	-5307	-5371	-5562	-4951	3030	3053	-5010	-4474	60
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
61(P)	-2379	-3935	-1479	534	-4956	2001	-2763	-4855	-2948	-4980	-4125	-2019	3633	2400	-3505	1442	-2680	-4001	-5009	-4336	61
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
62(T)	-1747	-2400	-3347	-3588	-4790	-2581	-3681	-4811	-3958	-4828	-3921	841	-3347	-3581	-4014	849	3623	-3472	-4980	-4736	62
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
63(S)	-1904	2631	2882	-3144	-4508	354	1785	-4808	-3630	-4845	-3985	-2789	-3416	-3330	-3787	3370	-2324	-3811	-4803	-4364	63
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
64(W)	-1305	-1289	49	-2357	2148	-2761	-1588	1112	541	-1124	-466	-2157	-2819	-1634	305	-1811	53	1055	2259	963	64
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
65(Q)	1065	-2636	499	528	-3566	-2140	-799	-2705	381	-500	-1725	-776	-2233	1696	1507	253	37	-2257	-2820	-2138	65
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 4

-	-148	-500	233	43	-381	399	108	676	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
80(L)	-3783	1558	6171	-577	-1700	-578	4829	789	-5319	-2932	1869	-5467	5104	-4311	-4901	-5031	3656	-1664	-3376	-3486
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
81(D)	-2488	-4951	3151	1435	-5107	233	-2139	-5060	-2530	4805	-4269	1432	516	-1912	-3432	2631	-3082	4510	-5103	-4047
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
82(E)	-199	-2647	182	1968	-2968	-2144	-905	-2719	688	-2663	-1736	-779	233	1887	617	713	-1113	-2269	-2830	-2147
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
83(H)	-1636	-2253	-1701	345	-193	-2676	-3786	-1813	-1146	-2138	-1426	-1506	2794	506	-1481	-1727	-1574	1748	-2290	1947
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
84(P)	-130	-2884	1913	-1843	-4557	177	-2569	-4373	-2671	4426	-3968	-1963	3043	-2250	-3137	1124	-2248	-3531	-4610	-3897
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
85(H)	205	-2492	-882	1359	-2689	-2005	-1355	-2556	599	-2506	-1593	870	-2099	-208	1522	469	-970	1765	-4337	-1998
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
86(H)	-3774	-2707	-5837	-5478	-2594	-5663	-5769	-2819	-5394	1787	-1334	-5328	-5256	-4692	-5371	-5020	-3782	-5478	-5444	-5121
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
87(D)	-3875	-4833	1016	-2276	-5882	17	-3426	-6148	-3929	-5838	-5452	-2631	-4258	-3213	-4722	-3666	-4079	-5478	-5444	-5121
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
88(H)	-3346	-2848	-5896	-5433	-2183	-5600	-4817	-2576	-5270	1790	1714	-5271	-5138	-4629	-5086	-4902	-3286	1748	-3845	-3780
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
89(A)	2442	2004	-3508	-2697	-1606	-2730	-2029	-1145	-2653	-1500	-839	-2515	-2981	-2245	-2585	433	476	526	-2086	1664
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
90(H)	-3229	-2537	-5660	-5302	-1731	-5418	-4995	-3257	-5207	-1545	-1623	-5068	-5155	-4983	-5255	-4749	-3011	1800	-4310	-3807
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
91(C)	-5403	-5247	3201	-3868	-6360	-4647	-4682	-7143	-5306	-6710	-6481	-4228	-5185	-4724	-5628	-5311	-5571	6677	-5444	-5968
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												
92(G)	-5249	-4846	-5305	-6182	-652	-3848	-5650	-7268	-6455	-6931	-6868	-5891	-5413	-6246	-6011	-5568	-5614	6628	-5452	-6497
-	-148	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	894	-1115	-701	-1378	*												

Tabla 4

93(A)	3685	-2326	-4594	-5003	-4903	-7605	-4236	-4596	-4784	-4945	-4017	-3372	-3411	-4314	-4460	-1981	567	-3438	-5129	-5976	93
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
94(D)	-5403	-5247	-4201	-3698	-6360	-4547	-4682	-7103	-5306	-6710	-6461	-4278	-5185	-4724	-5628	-5311	-5571	-6677	-5444	-5968	94
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
95(E)	-5429	-5227	-3611	-3948	-6343	-4680	-4688	-7022	-5156	-6944	-6413	-4312	-5188	-4740	-5393	-5190	-5587	-6030	-5420	-5964	95
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
96(V)	-3033	-2523	-5424	-3217	-5555	-5668	-2843	-5400	-1861	-1804	-1604	-5239	-6306	-5370	-5581	-4948	-3030	-3135	-5009	-4473	96
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
97(D)	-6	-5112	-3580	565	-5264	-2834	-2320	-5737	-2084	-5078	-4481	-1435	-3470	-2008	-3663	-2720	-3193	-4880	-5282	-4176	97
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
98(F)	804	-2571	-1488	1220	-3169	876	-1637	-2850	-1407	-376	-2177	-1471	-2870	-1281	-1874	-1925	-1682	-2469	-3304	-2730	98
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
99(N)	-205	-2852	1485	-493	-105	-114	1258	-2105	-478	-2663	-1745	-2923	-2265	1041	-936	-1085	326	-2286	-2842	-2164	99
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
100(L)	-3639	-3200	-5684	-5209	1023	-5456	-4058	-1167	-4824	-2335	1808	-5071	-4813	-4097	1212	-4670	-3510	-1887	-3119	-3039	100
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
101(N)	92	-2719	216	359	350	-2197	-689	-2773	-493	-2790	-1816	-2667	-2312	1044	-1008	-1141	440	2354	-2909	-2225	101
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
102(W)	-246	992	39	198	-144	-356	928	-456	289	-954	709	281	288	575	131	-180	-17	-477	-369	255	102
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
103(L)	-3490	2064	-5682	-5291	-0994	-5373	-4208	-978	-5002	-2853	2334	-5074	-4888	-4137	-4644	-4594	-3387	66	-3257	-3288	103
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
104(L)	-3039	-2533	-5727	-5426	-3184	-5538	-5838	-3878	-5395	-1976	1879	-5233	-5297	-5348	-5564	-4833	-3037	1922	-4987	-4448	104
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
105(K)	5328	-4974	-5211	-4878	-6129	-4874	-1445	-6424	-4028	-5879	-5882	-4787	-5200	-3878	-3081	-5417	-5268	-8124	-5037	-5529	105
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
106(G)	-5249	-4846	-5605	-6192	-6521	-3848	-5650	-7348	-8155	-8831	-6086	-5891	-5413	-8249	-6011	-5058	-5814	-6823	-5452	-6497	106
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 4

107(R)	-2636	-3198	-3874	-3158	-4300	2550	-2437	-4040	-1266	-3042	1570	2880	3743	-2108	3016	-2763	-2767	-3611	-3984	-3796	107
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
108(G)	5249	4848	5805	6182	6821	3808	-6850	-7348	-8456	6031	6626	5891	-5413	-6249	-8011	-5566	-5614	-6823	-5452	-6497	108
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
109(G)	2252	2525	4568	4513	-5126	3079	-4351	-4991	-4948	-5230	-4310	3508	-3573	-4438	-4868	-2188	-2407	-3727	-5216	-6269	109
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
110(C)	2793	3742	4964	5261	-4862	2544	-4256	-4638	-4898	-4930	-3998	-3898	-3056	-4357	-4530	672	-2123	-3409	-5104	-5057	110
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
111(L)	-4311	-3952	-5060	-5019	-1668	5013	2699	-2439	-4294	3083	-1762	-4672	5079	-4226	-4142	-4781	-4306	3086	2839	2000	111
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
112(L)	164	-1449	-3931	-3215	932	-2099	-660	-2835	1773	-491	-491	-2835	-3223	-2550	-2754	-2281	2280	597	-1938	-1612	112
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
113(R)	-2890	3436	-3681	-2475	-3522	-3676	-1754	-3027	-525	-186	1450	-2430	-3634	2800	3064	-2906	-2696	-3028	-3334	-3118	113
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
114(E)	-5428	-5227	-3611	3043	-6543	-4680	-4698	-7052	-5156	-5644	-6413	-4312	-5169	-4740	-5393	-5360	-5587	-5630	-5420	-5064	114
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
115(K)	-5328	-4974	-5211	-4878	-6129	-4874	-4145	-6424	-4029	-5979	-5562	-4797	-5200	-3978	-3061	-5477	-5268	-6124	-5037	-5529	115
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
116(U)	3852	3380	6308	6850	-1876	6157	4082	3278	5657	1173	3084	5883	5331	-4675	-6231	-5608	-9826	-1412	-3614	-3770	116
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
117(V)	-3031	-2523	-5722	-5421	-3211	-5544	-6655	2189	-5395	-1657	-1901	-5233	-5300	-5363	-6573	-4938	-3026	3381	-4969	-4465	117
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
118(E)	1970	3440	671	2293	-3739	-2490	-1412	-3525	-1174	-3457	-2584	-1111	-2759	1033	-1753	247	-1851	-3060	3634	-2874	118
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
119(Y)	478	-1938	-1580	-1027	-2064	968	-1121	-1871	-908	-1880	979	-1295	-2471	-829	456	1294	1226	-1462	2320	3715	119
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
120(M)	161	-1324	-2720	-2734	-1301	-2713	-1527	300	-1897	-1164	1516	422	-2775	-1681	273	667	1236	1045	-1761	-1090	120
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 4

-	-148	-500	233	43	-381	395	105	-628	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-254	-8606	-2657	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
135(O)	-1208	-2701	20306	469	-3013	-2087	-811	-2772	1571	-2713	-1793	-711	1406	1207	-945	-1073	556	-3271	-2881	-2183
-	-149	-500	233	43	-381	399	108	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-368	-294	-249
-	-7	-8338	-8402	-894	-1115	-282	-2492*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
136(K)	-1197	-2393	-1160	-629	-2573	284	100	-107	2043	2332	-1483	700	-2311	1006	-996	-142	-1135	638	-2616	1441
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
137(L)	-1429	-1419	-2861	-2399	-1384	75	2875	852	-2094	2161	-813	507	-2915	-1899	-2147	-1910	-1378	-840	-1840	-1148
-	-149	-500	233	43	-381	399	105	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
138(G)	-2094	2048	-4883	-4939	-3677	2953	-3905	-3084	-4551	1742	-2783	-3648	-3705	-4191	-4308	-2409	-2478	-2819	-4182	-3948
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-368	-294	-249
-	-310	-8606	-2300	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
139(G)	-2039	-3386	-760	751	-3953	2992	-1883	-3772	-1503	-3736	-2940	-1204	-2871	1133	-2038	-1680	718	-3272	-3927	-3185
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-368	-294	-249
-	-481	-8303	-1886	-894	-1115	-1965	-427*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
140(O)	-940	-2299	-1878	-180	-2804	-1821	-574	-2327	1159	-2323	-1838	-487	-1974	-143	-692	1785	-884	-1824	-2537	-1874
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-936	-7851	-1087	-894	-1115	-2707	-240*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
141(O)	-938	-2159	-872	-188	-2394	-1727	-723	-2242	616	-2123	-1305	1962	-1829	-2203	2008	-820	-833	-1874	-2188	-1702
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-368	-294	-249
-	-18	-8938	-7881	-894	-1115	-3303	-154*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
142(W)	-3287	-2487	-3870	-3995	-1146	-3755	-293	-2351	-3496	-1829	-1813	-2564	-3838	-2607	-3080	-3042	-3163	-2460	-5135	3293
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-18	-8839	-7981	-894	-1115	-94	-3981*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
143(K)	-1377	-2796	-1249	-677	-3147	-515	1562	-2669	2227	-2769	-1891	-19	370	-473	1735	-1258	973	-2437	-2936	-2308
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
144(F)	-1269	-1674	-1906	-1343	-2287	740	-1243	-1281	445	894	1381	644	-2580	894	-1502	-1488	-1208	-1134	-2059	-1617
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-124	-8606	-3645	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
145(P)	2399	2218	-4742	-4533	-4827	1387	-4029	-4645	-4562	-4894	-3951	-3168	-2828	-1060	-4339	-1852	-2073	-3380	-5022	-4937
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-6	-8488	-9530	-894	-1115	-402	-2040*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
146(V)	-3180	-2691	-5763	-5333	-2397	-5475	-4843	1633	-5189	1010	2051	5138	5108	-4711	-5091	-4778	-3137	2910	-4072	-3842
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-368	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
147(P)	-5672	-5016	-5908	-6280	-6567	-5021	-5699	7438	-6489	-6950	-6782	-6098	-3223	-6350	-6137	-6019	-5995	-5875	-5439	-6481
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	98	359	117	-369	-294	-249
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 4

148(V)	-3064	-2549	-5744	-5416	-3044	-5587	-5526	2767	-5376	26	-1748	-5243	-5290	-5263	-5507	-4983	-3050	2845	-4804	-4365	148
-	-149	-500	233	-3	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
149(E)	-5429	-5027	-5811	-3658	-894	-4888	-4888	-7082	-5158	-894	-6413	-4312	-5188	-4740	-5383	-5890	-5687	-6030	-5420	-5964	149
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
150(V)	-3034	-2523	-5726	-5424	-3217	-5557	-5870	2853	-5401	-1866	-1903	-5240	-5307	-5371	-5582	-4951	-3030	2987	-5010	-4474	150
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
151(I)	-3098	-2584	-5765	-5423	-2910	-5595	-5432	2858	-5369	805	-1628	-5253	-5275	-5169	-5457	-4954	-3030	2522	-4655	-4287	151
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
152(F)	-2100	-2001	-2590	-2765	-4683	-2826	-3070	-4508	-2721	-4390	-3817	-2613	-3848	1388	-2863	-2250	500	-3843	-4688	-4333	152
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
153(W)	-246	982	39	198	-144	-59	928	-456	289	-954	709	281	-265	575	131	-190	-17	-477	369	255	153
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
154(M)	-1341	-1294	-3042	-2451	2731	-36	1637	803	2166	94	-248	-2223	2861	603	2187	830	1285	718	-1728	-1362	154
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
155(C)	2726	3556	4940	-5212	-4865	1175	-4237	-4682	-4867	-4831	-3980	-3353	-3349	-4328	-4518	426	-2116	3418	-5102	-5067	155
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
156(W)	196	1347	-3336	-2725	-1130	-2867	1000	667	-2371	-1106	-459	-2376	-2920	-2077	889	-1936	-1310	-678	3362	3169	156
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
157(K)	166	2636	141	579	-2558	2143	-801	-2708	1664	-2654	-1728	-778	-2236	1044	1226	619	-1108	845	-2822	-2141	157
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
158(Y)	1212	-1470	-2316	-1741	1052	-2622	-1397	-1076	300	-1339	-659	-1763	1264	-1389	476	-1632	-1227	1031	-1884	1942	158
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
159(V)	-2101	-1824	-4475	-3923	-2018	-3881	-2921	1555	-3607	44	-1092	18	-873	-3304	-3488	-3016	1738	2829	-2759	-2390	159
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
160(I)	972	-1454	-2381	-1785	-1451	-2633	-1415	1648	368	1218	-644	-1793	-2701	-1422	-48	121	475	-861	-1875	-1479	160
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
161(R)	-1557	-2965	-1351	1883	-3348	-504	-1043	-3048	1177	-2952	-2061	809	-2552	675	2433	-1431	-1477	-2670	-3069	-2464	161
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	356	117	-368	-294	-249	
-	-6	-8606	-6649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 4

162(H)	903	-2511	733	634	-2833	-2001	-694	-2563	1048	-2528	-1901	891	-2009	1582	1672	-016	977	-2134	-2692	-201C	182
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-7	-8359	-9402	-894	-1115	-282	2482	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
163(L)	145	-1585	-4123	3629	-1544	-3387	-2364	775	-3163	2487	-887	3055	-3428	-2706	-2887	41	-1740	743	-2201	-1870	183
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-8	-8806	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
164(V)	623	-2039	-1412	108	-2154	-2315	-1012	290	669	456	-1187	-1090	-2400	576	116	778	-1150	1235	-2361	-1832	164
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-9606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
165(K)	-121C	-2691	485	1744	-3009	-2186	-843	-69	1008	2708	-1783	414	339	-385	943	718	-1157	2312	-2875	-2189	165
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8806	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
166(L)	-1388	-1748	-4126	3436	607	-3503	-2344	1202	-3118	2055	1828	-3097	-3473	1712	418	-2594	-1866	-1010	-2126	-1848	166
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-764	-8806	-1291	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
167(F)	861	-862	-2216	-1632	1624	-2234	-1030	-388	778	1008	-53	-1526	340	-1183	1510	-1269	-765	-290	-1267	1539	167
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-9	-7851	-8893	-894	-1115	-2707	-240	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
168(H)	-715	-2156	-682	1820	958	-1758	2080	-2178	869	2157	-1258	-401	-1844	47	694	-670	847	-1769	-2349	-1688	168
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-3016	-1080	-1310	-58	4631	-2707	-240	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
169(K)	541	-1272	-806	243	-1261	-1631	-278	803	968	241	-435	447	-1715	16	381	551	-475	-788	-1496	1368	170
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-16	-7111	-8154	-894	-1115	89	-3808	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
170(G)	368	-2189	-3206	-3565	-4977	3463	-3601	-4826	4249	-5038	-4124	688	-3400	-3723	-4295	-2031	-2269	-3602	-5155	-4941	171
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
171(C)	238	-3977	-3406	371	-4580	2817	-3598	-4282	-9864	-4544	-3874	2915	-3327	-3491	3030	-1950	-2149	-3315	-4780	-4524	172
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
172(E)	-1178	-2843	222	2106	-2561	-2149	-810	-2709	1271	-2657	-1733	-785	-2244	-351	408	253	392	577	-2825	-2147	173
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
173(C)	1981	-2033	-3741	-3203	-1581	-2900	-2105	-1042	-2847	-1466	-825	-2650	1690	-2903	-2717	-1936	-1483	1768	-2081	1103	174
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
174(K)	-1192	1182	577	1872	-2988	-2156	-821	2728	2052	-2576	-1752	374	-2254	1044	912	-1072	-1132	-141	-2945	-2163	175
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
175(L)	-3000	-2617	-5418	-4662	-1796	-4884	-3788	2005	-4568	2356	-719	-4533	-4605	-3952	-4324	-4068	-2927	662	-3117	-706	176
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	

Tabla 4

	-149	-503	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9648	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
190(G)	-1970	-3190	-1651	-1272	-3623	-2887	-1466	-3495	690	-3394	-2949	837	-2933	-1041	345	520	-1935	-3053	-3480	-2950
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
191(N)	-3572	-4363	-2054	-2403	-3700	-3611	1730	-5474	-3143	-5200	-4750	-4219	-1106	-2994	-3470	-3437	-3764	-4934	-4037	-3152
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
192(Y)	-2601	-2317	-4837	-4777	-2774	-4169	-2557	-1161	-3809	976	1646	-3718	-4055	-3312	-3676	-3297	-2522	912	-2037	-2062
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9646	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
193(U)	-3082	-2579	-5722	-5432	-3070	-5436	-5500	-3834	-5371	-1812	-1799	-5204	-5248	-5259	-5499	-4839	-8089	763	-4808	-4338
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
194(I)	887	-2667	-5400	-4982	-2747	-5034	-4493	-2447	-4817	1865	-1570	-4691	-4882	-4594	-4817	-4295	-2785	2222	-4070	-3679
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
195(D)	-5403	-5247	-4203	-3898	6360	-4647	-4682	-7143	-5306	-6710	-6481	-4228	-5165	-4724	-5628	-5311	-5971	-6677	-5444	-5980
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
196(W)	1374	1831	-3697	-3062	944	-2805	-1778	-647	-2659	765	1206	-2550	-2653	-2280	-2460	-1991	-1296	1458	-3242	-1297
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
197(Y)	-1155	-2561	629	465	498	-2727	2018	-2629	1766	-2986	-1875	-768	-2216	1110	633	-1041	-1091	-2200	-2747	-2249
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9644	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
198(F)	-2529	-2378	-4708	-4317	-3852	634	-2407	-1330	-3952	-2008	-1184	-3613	-4029	-3430	-3724	-3098	-2553	37	-1994	-1161
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9648	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
199(W)	167	-2608	543	1350	-2992	752	-812	-2640	-400	-1391	-2204	-793	869	697	-905	-1050	393	-2212	-2794	-2123
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9648	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
200(E)	-1224	-2674	-1052	-892	-3010	-2175	-811	-2747	1260	-2681	-1796	736	426	-355	1729	-1102	795	-2306	-2334	-2176
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
201(I)	-1680	-2384	1157	-1375	-2958	2441	-1854	-2571	-1864	-2787	-2075	-1563	7045	-1804	-2319	1056	-1780	-2140	3245	-2715
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
202(L)	196	-1230	1001	-2733	-1199	-45	-1718	-2443	-2404	-66	1177	-2387	2813	-2094	-2330	-1931	133	627	-1697	-1345
	-149	-500	233	43	381	399	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	117	-369	-294	-249
	-6	-8606	-9649	-694	-1115	701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 4

203(KV)	-246	982	39	198	144	-585	928	-456	289	-954	709	26	-285	575	131	-100	-17	-477	1368	255	204
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
204(D)	-1192	-2066	1387	479	-2987	905	1522	-2738	930	-2681	-1758	453	-2253	1000	618	271	-1131	-2768	-2646	-2165	205
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
205(D)	433	-4013	3198	-1096	-4558	-2754	-2037	-4393	484	-4319	-3549	-1451	2098	-1679	-2685	-2297	-2573	-3958	4503	-3661	206
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
206(W)	-161	-1534	325	-1569	-1543	-2564	-1328	1049	30	1134	-717	-1634	1219	-1254	-1872	-251	-1207	-960	3174	-1526	207
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-599	-8606	-1574	-864	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
207(E)	-832	-2017	-804	1337	888	-167	-525	-1912	-158	612	-1138	-542	-1944	1015	975	594	-771	-1582	-2267	-1657	208
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-8	-8018	-9061	-834	-1115	-169	-3177	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
209(E)	1587	-2677	450	1388	-2893	-113	-834	-2745	1329	-2692	-1789	-797	-2284	736	-931	-1084	-1146	-505	-2862	-2177	209
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
209(M)	802	-1495	-4062	3447	-1620	-3322	-2227	824	-3087	1877	1385	-2865	-3338	-2688	-2882	-2422	-401	1183	-2053	-1722	210
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
210(H)	166	1805	1017	1762	-2863	-472	-2332	-2700	-396	-2651	-1729	778	-2944	1043	-903	884	-1118	-2256	-2824	2143	211
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
211(R)	-1176	-2946	827	301	-2567	-2147	-805	80	1073	-2661	-1735	553	-2241	1043	2048	-1056	1141	-2708	-2026	-2147	212
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
212(A)	1952	3041	678	1917	-3353	-2343	-1113	-3113	-750	-3050	-2149	-868	-2516	684	1371	-1391	-1489	-868	-3216	-2511	213
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
213(Y)	-3825	-3694	-6294	-5832	-1978	-6067	5109	-3900	-5858	1623	-758	-5906	-5367	-4721	-5322	-5478	-3736	-1088	-3777	-3839	214
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
214(N)	163	-2644	-1060	601	-2843	-2203	-876	-2672	1749	818	-1747	2418	-2305	-428	-851	94	-1183	-2255	-2843	-2180	215
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
215(M)	930	-2497	-1084	550	-2759	-478	1513	-2468	-445	-431	2189	1436	-2265	-400	831	-1085	329	-2086	-2717	-2072	216
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
216(Y)	-2915	-2559	-5312	-4739	419	-4739	-3640	-2978	-4429	1485	-656	-498	-4492	-3823	-4183	-3809	1278	-945	-3034	-2864	217
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-369	-294	-249	-
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Table 4

217(P)	-2026	-3150	379	213	-3504	-2522	-1735	-3127	-1648	-3232	-2523	-1378	-3333	-1389	-2203	-1939	401	1113	-3628	-2986	218
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
218(G)	-5249	-4846	-5805	-6192	-5821	-3648	-5650	-7348	-8458	-6931	-6866	-5891	-5413	-6249	-5011	-5566	-5614	-6629	-5452	-6497	219
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
219(V)	-3032	-2627	5721	5421	-3204	-5529	-5638	1764	-5301	1952	-1097	-5221	-5294	-5354	-5564	-4024	-3030	3483	-4985	-4454	220
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
220(V)	-3030	-2536	5710	-5416	-3180	-5472	-5582	1078	-5374	-1955	-1868	-5203	-5288	-5223	-5532	-4889	-3033	3633	-4937	-4416	221
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
221(E)	-2882	-4737	2030	2030	-4994	228	-2195	-4903	-2410	-4775	-4093	-1445	-3371	-1661	-3280	-2557	969	-4364	-4971	-3902	222
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
222(H)	-1683	-2273	2111	-1687	-2720	-2638	-2757	-2371	-1792	-2658	-1938	1501	-3000	-1762	-2087	-1842	2262	788	-3026	-2521	223
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
223(C)	-5249	-4848	-5805	-6192	-6621	-3646	-5650	-7340	-8455	-6931	-6866	-5891	-5413	-6249	-6011	-5566	-5614	-6629	-5452	-6497	224
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
224(L)	-4228	-3609	-6619	-6031	-1718	-6422	-5097	1928	-5834	-2739	2169	6148	6413	4568	-5307	-6805	4066	1800	-3556	3790	225
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
225(F)	-5765	-4802	-5873	-6324	-4568	-5247	-3479	-5215	-6252	-4537	-4849	-5413	-6556	-5631	-5689	-6820	-6856	-5401	-2775	-1728	226
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
226(U)	1157	-1932	-4694	-4157	2139	-4086	-3174	2444	-3853	1067	1173	3737	4056	3645	-3737	-3230	274	1400	2064	2637	227
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
227(N)	-2483	-4204	-500	-500	-4447	1736	1247	-4261	368	-4189	-3400	2585	-3142	-1459	-2617	-2222	-2498	-3801	-4368	-3498	228
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-6	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378	*													
228(M)	-1382	1927	-3453	-2835	1221	2002	-1767	805	-2456	-1063	-1041	563	-2955	-2160	866	-1979	325	534	-1727	-1378	229
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-110	-8606	-9617	-894	-1115	-701	-1378	*													
229(A)	-2003	-2083	4487	4519	-4043	936	-3724	-3504	-4244	-3962	-3187	-3127	-3222	-3619	-4050	-1810	662	1124	-4393	-4200	230
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	
-	-119	-8502	-3713	-894	-1115	-751	-751	*													
230(I)	708	2144	1325	778	-3067	-2123	-875	-2825	-511	2772	-1982	917	-2277	-429	-1037	1294	659	2373	-2945	-2245	231
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	

Tabla 4

-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-486	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	0	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
245(E)	-1173	-2544	125	1654	-2824	-2162	826	-333	1224	-2542	1322	380	-2185	-380	-823	-1073	1332	44	-2752	-2084
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-6	-8806	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
246(R)	-1290	-1680	-1984	32	727	-2538	-1274	1093	1325	948	-835	-1531	-2610	-1723	1480	-1624	488	1115	-2049	-1618
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-208	-8606	-9649	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
247(E)	-1098	-1699	-1503	1932	268	-2269	1109	-1380	530	-133	-663	-1141	-74	-72	-1212	-1227	-1036	1039	-2038	1160
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-191	-8405	-3045	-894	-1115	-1678	-541*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
248(K)	-1097	-2546	-894	906	-2885	-263	-671	-2623	2294	-2551	-1640	1564	527	-216	815	-973	-1030	-2180	-2700	-2243
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-1238	-8221	-672	-894	-1115	-2153	-367*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
249(F)	-253	-917	-1409	1421	2656	-1092	-1555	-2459	-1537	-2662	-1461	-1108	-2983	-371	-1743	1048	-614	-1671	-2835	-2454
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-19	-6802	-7844	-894	-1115	-3333	-149*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
250(K)	-1150	-1622	-1430	946	2379	-2033	-489	-1242	2983	-1236	-778	-939	-2179	-474	-282	-1235	-1062	-1159	-986	-123
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-19	-6802	-7844	-894	-1115	-3333	-149*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
251(C)	-933	-3822	-1852	-1089	-2158	-1769	-787	-1894	2742	-1895	-1231	-1063	-2051	-497	-80	-1053	984	-1362	-2119	-1779
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-490	-6802	-1641	-894	-1115	-3333	-149*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
252(H)	-1687	-1933	-1269	1292	-976	-1925	-4894	-2432	-988	-2785	-1898	-1353	-2307	-1191	-1079	-1732	-1725	-2223	-1258	-443
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-27	-8339	-7981	-894	-1115	-63	-4158*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
253(W)	-246	982	39	198	-144	-566	928	-456	288	-954	709	281	-285	575	131	-160	-17	-477	1369	255
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249
-	-19	-6802	-7844	-894	-1115	-3333	-149*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

¹Nombre del programa y versión

²Nombre del archivo de alineamiento de secuencias de entrada

³Longitud del alineamiento: incluye inserciones o supresiones

⁴Tipo de restos

⁵Mapa de los estados de coincidencia a las columnas del alineamiento

⁶Comandos usados para generar el archivo: éste significa que se aplicó hmmbuild (parámetros por omisión) al archivo de alineamiento

⁷Comandos usados para generar el archivo: éste significa que se aplicó hmmscalibrate (parámetros por omisión) al perfil hmm

⁸Número de secuencias en el alineamiento

⁹Cuando se generó el archivo

¹⁰La distribución de probabilidades de transición para el modelo nulo (estado G único)

¹¹La distribución de probabilidades de emisión de símbolos para el modelo nulo (estado G): consiste en K números enteros. La probabilidad nula utilizada para convertir estos de nuevo en probabilidades del modelo es 1/K

¹²Los parámetros μ y λ de la distribución de valores extremos, respectivamente, ambos valores de coma flotante. λ es positivo y no es cero. Estos valores se ajustan cuando el modelo se calibra con hmmscalibrate.

Tabla 5

HMMER2.0 [2.26]¹
 NAME ipB_exp_ver_seqs²
 LENG 165³
 ALPH Amino⁴
 MAP yes⁵
 COM /app/public/hmmer/current/bin/hmmdbuild ipB_exp_ver_seqs_hmm.txt ipB_exp_ver_seqs.aln⁶
 COM /app/public/hmmer/current/bin/hmmcalibrate ipB_exp_ver_seqs_hmm.txt⁷
 DATE Fri, Jan 15 15:09:54 2010⁸
 XT -6455 -4 -1000 -1000 -6455 -4 -6455 -4
 NULT -4 -6455⁹
 NULE 595 -1558 85 338 -294 453 -1158 197 249 902 -1065 -142 -21 -313 45 531 201 384 -1998 -644¹
 EVD -148.871582 D.17.1732¹⁰

HMM	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y		
	m>n	m>d	m>n	d>n	d>d	d>n	d>d	b>n	b>m	m>e												
1(M)	-419	-472	-717	-1860	-1452	-811	-1641	-1064	-16	-1170	-236	-3223	-1271	-1953	-1041	-1252	-839	2183	1	-1479	-1107	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-294	-249
	-21	-6354	-7696	-884	-1115	-701	-1378	-478*														
2(M)	-2287	-2926	-2934	-1749	-3481	-2950	-972	-2902	1739	-2718	-4135	-1692	-2923	-2923	-571	1989	-2235	-2032	2713	-2754	-2576	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
3(K)	-2181	-3065	-3640	-2094	-4303	-3231	-1068	-3573	2969	-3184	-2538	-1924	-3155	-649	2884	-2655	-2421	-3165	-2984	-2940	-2940	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
4(U)	-2263	-1773	-4816	-4590	-2957	-4694	-4694	3030	4519	-1143	-1083	-4377	-4471	-4430	-4645	-4052	-2257	-1254	2659	-4021	-3534	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
5(A)	-2819	-1481	-2444	-2313	-2177	-1153	-2030	-2304	-2293	-2564	-1847	-1910	-2487	-2076	-2443	-1192	-1254	-1841	-1841	-2615	2482	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
6(U)	-2774	-2311	-5130	-4595	-1840	-4727	-3407	-2972	4331	1551	119	-4360	-4276	-3480	-3999	-3964	-2674	-548	-2467	-2263	-249	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
7(G)	1350	-1652	-3232	-3534	-4098	-3222	-3254	-3908	-3698	-4170	-3287	-2477	-2698	-3270	-3581	-1294	-1510	-2764	-4226	-4163	-249	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
8(C)	-1570	-3128	-3456	-3372	-3254	-1715	-2147	-2919	-3065	-3214	-2387	-2245	-2443	-2730	-3031	2158	1808	-2142	-3556	-3325	-249	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
9(D)	-3632	-4180	-4179	-2278	-5073	-3341	-3194	-5633	-3716	-5365	-5035	-2584	-3886	-3102	-4252	-3952	4000	5151	4434	-4544	-249	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															
10(H)	-4406	-3661	-3921	-4171	-3231	-3925	-5031	-5466	-3992	-4849	-4130	-4378	-4151	-3983	-4548	-4592	5195	3983	-2818	-2818	-249	-249
	-149	-500	233	399	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*															

Tabla 5

-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
28(E)	-1094	-2562	-450	2079	-2698	820	-601	-2638	1360	-2558	-1677	-487	-2036	2008	-576	-944	-1037	-2199	-2703	-2036
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
28(F)	981	-234	-1267	-620	-2805	-2102	-629	-2733	1534	-2819	-1648	-828	-2190	201	-2298	-1120	1445	2071	-2606	-2019
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
27(G)	-3681	-3593	-4380	-4747	-5281	-3832	-4410	-5608	-5071	-5671	-5288	-4417	-4223	-4850	-4766	-3952	-4069	-5125	-4424	-5214
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
28(H)	-792	-959	1170	-1245	-823	-2121	-2820	1243	-1075	-814	-148	-1260	2191	-907	-1300	-1141	-732	1120	-1278	1776
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
29(E)	-3777	-4125	-1925	-3873	-4884	-3355	-3125	-5378	-3371	-5156	-4796	-2611	-3875	-3007	-3762	-3630	-3916	-4960	-4357	-4463
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
30(V)	-1398	-1298	-3695	-3062	-1815	-2838	-1891	-110	-7153	-809	-483	-2576	1848	-2415	-2655	-2024	-1427	-2888	-1672	-1038
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
31(I)	-1003	-1573	-3829	1002	-1980	-3656	-3129	-3028	-3316	-1074	-685	-3233	-3801	-3173	-3427	-3072	-1882	1884	-3087	-2680
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
32(D)	-2621	-3795	-3683	1030	-4598	-2824	-2158	4724	2532	-4803	-4039	-1389	-1844	-1902	-3313	-2938	-2792	-4123	-4387	-3801
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
33(C)	-773	-2902	-2248	-1657	1518	-2191	-2248	-300	952	-640	16	-1516	-2253	-1171	-1445	-1236	-714	1306	-1177	-767
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
34(Y)	-1203	-1551	-1601	-1567	-258	-2328	-891	-1846	-1574	-1893	-1401	-1430	-2334	-1422	-1739	-1353	-1362	-1612	-847	-3352
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
35(C)	-663	-5232	-2426	-2431	-1899	-1297	-1762	-1091	-2104	-1610	-1264	-1804	-1878	-2021	-1884	-988	985	841	-1907	-1755
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
36(G)	1599	-1639	-2668	3545	4089	-2441	-3249	-3881	-3853	4168	-3271	-2471	-2638	-3286	-3555	1280	1498	-2750	-4224	-4158
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
37(I)	-1010	-1358	-2585	-2259	-1755	-2104	-1851	-1170	-1982	1053	-992	-1947	-1595	-1869	-2088	-1345	-2783	-1049	-2315	-1957
-	-149	-500	233	43	-381	388	106	-626	210	-468	720	275	394	45	96	358	117	-369	-284	-248
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 5

38(W)	-1523	-2432	-1718	981	-1661	2452	-2353	1686	2305	-1571	-1119	-2450	381	1874	-1468	-1390	-2096	3190	1988	39	
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	384	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
39(Y)	-301	-1431	-1812	-1432	-2222	1016	-1840	-1356	-2172	-1405	-1370	-2236	-1277	-1978	1947	1519	-1551	-2514	2318	40	
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
40(D)	993	-2671	1719	1360	-2873	-1806	665	-2750	-415	-2688	-1805	1577	-2049	980	940	-1096	-2291	-2885	-2121	41	
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
41(E)	1388	-2616	578	3247	-3612	-2111	-1670	-3547	-1674	-3640	-2924	-1089	-2643	-1355	-2219	-1650	-1910	-2593	-3818	-3150	42
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
42(S)	-1288	-2617	1789	359	-3169	-1909	949	-2647	-644	-2904	-2059	-965	-2273	549	1402	2434	-1313	-2461	-3068	-2377	43
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
43(V)	-1245	-1672	1692	1380	-2213	2223	1696	-1727	-1812	1281	1489	-2602	-1501	-2109	1508	1297	2681	-2717	-2237	-2237	44
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
44(D)	-3832	-4189	-4132	-2236	-5073	-3341	-3194	-6333	-3718	-5369	-5035	-2584	-3886	-3102	-4252	-3662	-4000	-5151	-4434	-4544	45
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
45(Y)	-4444	-3646	-4593	-4992	-5039	-4268	-1873	-3883	-4663	-3407	-3460	-3884	-4503	-3988	-4255	-4334	-4491	-4072	-1177	-4928	46
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
46(P)	-4077	-3781	-4518	-4658	-5206	-3818	-4460	-5888	-5053	-5602	-5343	-4628	-4938	-4749	-4364	-4429	-5313	-4385	-5119	-5119	47
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
47(D)	1286	-3140	3058	355	-3519	-2003	2575	-3420	-1274	-3384	-2830	-708	2453	912	-1929	1507	-1766	-2638	-3557	-2729	48
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
48(F)	-4356	-3339	4901	5124	-3760	-4872	-927	3241	-4668	-2576	-2659	-3327	-4542	-3456	-4076	-3933	-4221	-3405	-176	3484	49
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
49(C)	2148	3527	3864	4003	-3721	1287	-3190	-3417	-3713	-3737	-2859	-2448	-2504	-3263	-3472	-1075	-1267	-2408	-3992	-3688	50
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
50(W)	-116	872	45	325	-317	-673	804	-480	420	-890	565	301	-446	634	168	-75	56	-423	1083	81	51
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													
51(S)	-865	-1103	-1784	-1210	-1118	-2152	-924	1475	1128	625	-212	-1256	2231	642	-1095	-1689	-810	-483	-1540	-1136	52
-	-145	-500	233	43	-381	359	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	-369	-294	-249		
-	-10	-774	-8756	894	-1115	-701	-1378	*													

Table 5

52(K)	123	-2712	-1604	-858	-3238	-2371	-481	-2811	-2314	-2638	-1828	-1024	-2404	1824	1815	-1428	-1402	-2458	-2853	-2252	53
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
53(V)	1377	-1553	-3086	-3894	-2567	-2622	-3338	-77	-3877	-1768	-1504	-3013	-3181	-3428	-3800	-1869	-1667	-3237	-3526	-3166	54
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
54(A)	3105	-1485	-3603	-2604	-2074	-3074	-1142	-3456	-2386	-1967	-2008	-2785	-394	-3150	-3339	-1428	-1440	1452	3558	-3269	55
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
55(E)	824	-2036	-605	-1957	-2266	-1788	-476	-1940	-88	258	-1181	-452	-1892	1690	-545	-760	1349	-1608	-2277	-1663	56
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
56(M)	1890	-1463	-1381	-638	-1830	-1852	-861	-1440	-562	-1654	-2427	-863	-2080	-577	1581	974	-820	-1194	-2068	-1809	57
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
57(V)	1094	-1601	-4529	-4123	-2121	-4107	-3885	1934	-3944	-1135	-358	-3809	-4035	-3771	-3874	-3368	1520	-2837	-3368	-2835	58
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
58(A)	1774	1019	-2184	-1568	-1081	-2272	-1130	-270	1030	714	-221	-1540	-2360	-1150	-1407	-1324	-888	1473	-1543	-1150	59
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
59(S)	1892	-1641	-1607	-273	-3013	1054	-1423	-2728	-1088	-2828	-1923	-1262	-2169	-1068	1609	1824	-1021	-2082	-3055	-2568	60
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
60(D)	1533	-3153	-3838	-194	-3448	1862	-895	-3255	1471	-3173	-2345	1731	2295	-601	-1467	-1314	-1531	-2779	-3350	-2542	61
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
61(E)	2454	3598	734	3359	-4338	-2504	-1993	-4322	-2688	-4232	-3589	-1089	1874	-1704	-2642	-2264	-2578	-3787	-4115	-3566	62
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
62(C)	1242	3033	3522	-3271	-2183	1444	-2376	-1404	-2657	-2030	-1386	-2284	-2493	-2598	-2827	-1178	-1123	2256	-2651	-2354	63
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
63(D)	2068	-3938	3072	1659	-4131	2061	-1387	-4037	-1584	-3919	-3320	-667	-2576	-1047	-2405	1367	-2129	-3512	-4113	-3127	64
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
64(F)	1017	-1052	-2417	-1841	-2582	743	-1090	-537	-1368	992	-176	-1687	-2761	-1311	1219	-1447	-968	-481	-1733	-882	65
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
65(C)	3681	3583	-4389	-4747	-5281	3812	-4410	-5038	-5071	-5671	-5288	-4417	-4223	-4850	-4766	-3952	-4089	-5125	-4424	-5214	66
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-878	210	-466	-720	275	394	45	95	358	117	-368	-294	-249	
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 5

	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
80(N)	-3232	-3514	-2565	-2905	-4368	-3284	-3264	-5182	-3627	-5058	-4632	-6348	-3843	-3410	-3792	-4319	-3533	-4568	-4087	-3976
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
81(K)	-2769	-3390	-3563	-2082	-4290	-3219	-1077	-3575	-3432	-3190	-2544	-1922	-3154	-561	1862	-2845	-2419	-3363	-2992	-2942
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
82(V)	-2562	-2155	-4218	-4018	-3256	-1977	-1138	-1239	-3628	-1488	-1249	-2992	-3772	-2916	-3008	-2976	-2495	-2869	-487	2531
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
83(P)	1138	-1925	-2169	-1812	-3256	-1977	-1635	2922	-1049	-3027	-2235	-1654	-3213	-1388	1621	-1763	-1302	-2321	-3212	-2864
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
84(G)	-3681	-3593	-4389	-4747	-5281	-3842	-4419	-5908	-5071	-5671	-5288	-4417	-4223	-4850	-4768	-3852	-4069	-5129	-4424	-5214
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
85(U)	1176	-1604	-4535	-4139	-2133	-4064	-3964	2894	-3965	-1141	-866	-3905	-4021	-3786	-3692	-3332	-1991	1929	-3359	-2957
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
86(E)	4070	3888	4106	3890	-4820	-3837	-3026	-5122	-1946	-4739	-4314	-3731	-4155	-2644	-4377	-4728	-4041	-4836	3949	-4248
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
87(C)	3127	3528	4003	4188	3706	-1641	-3105	-3157	-3046	-3666	-2695	-2597	-2671	-3621	-3568	-1217	-1400	-2337	-3985	-3877
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
88(A)	3118	1485	3690	3696	2915	-2067	-3074	-1169	-3456	-2402	-1981	-2601	-2760	-3150	-3338	-1419	-1436	1406	3566	-3277
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
89(L)	-2621	-2188	-5029	-4579	-1287	-4611	-3788	140	-4321	-2492	-125	-4380	-4287	-3887	-4107	3921	-2576	2256	-2850	-2788
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
90(C)	1988	5216	-4037	-4247	-3758	-1866	-3338	-3145	-3883	-3680	-2948	-2646	-2656	-3485	-3603	-272	-1455	-2354	-4021	-3911
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
91(W)	-847	-784	-2568	-1982	-511	-2287	-1037	-302	-1685	769	14	-1718	-2357	-1413	-1689	774	1182	-215	3352	2036
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
92(D)	-1013	-2895	7532	1311	1377	-1771	588	2538	288	2489	-1615	1531	-1973	-164	-834	1173	-971	-2102	-2688	-1972
	-149	-500	233	43	-381	389	108	626	210	-466	-720	275	394	45	96	358	117	-368	-294	249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 5

93(L)	-817	-1384	-1507	-1084	1784	-1673	-1410	-956	-1673	-941	1148	2214	-677	-1282	986	894	1344	-2085	-1624	94	
-	-149	-500	233	43	-381	389	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	350	117	-369	-284	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
94(Y)	-1842	-3128	1667	-511	-1838	2108	-1098	-1200	-3017	-2371	-838	-2565	2147	-1749	-1638	-1843	2778	-2296	-3845	95	
-	-149	-500	233	43	-381	389	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	350	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
95(M)	-833	-1274	-2650	-2318	-2137	-1802	-1931	-1658	-2078	-1974	-3504	-1882	2389	1815	1148	2537	-1344	-2548	-2193	96	
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
96(A)	3577	2213	-3823	-4109	-4242	-2448	-3856	-3895	-4111	-4316	-3880	-3108	-3185	-3808	-3908	-1965	3167	-1198	-4290	97	
-	-149	-500	233	43	-381	396	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
97(R)	1998	-2478	-1833	-1012	-3127	2309	-867	-2719	83	2038	1054	-1142	-2449	1831	2448	-1447	-1431	-2360	-2716	2321	98
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
98(M)	3154	-2620	-5525	-4938	-957	-5202	-3635	1746	-4895	2559	-2719	-4884	-4446	-3636	-4282	-4494	-3018	-828	-2880	-2823	99
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
99(S)	2331	-1495	-3356	-3521	-3885	-1723	-3093	-3652	-3467	-3930	-3025	-2338	-2506	-3077	-3353	2771	-1296	2534	4111	-3967	100
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
100(R)	-470	-3888	-4406	-3890	-4820	-3837	-3026	-5122	-1946	-4733	-4314	-3731	-4153	-2044	-4377	-4178	-4041	-4836	3849	-4248	101
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
101(W)	110	672	45	325	-317	-673	804	480	420	-880	565	301	-446	834	188	75	58	-423	1003	81	102
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
102(E)	-836	-2081	-540	-2043	-2343	-1754	-487	1015	-118	-2081	-1200	-432	-1892	1883	-598	904	-184	-1672	-2338	-1704	103
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
103(H)	-4406	-3861	-3821	-4171	-3231	-3926	-5401	-5408	-3892	-5913	4949	-4130	-4378	-4151	-3893	4548	4582	5195	-3383	-2618	104
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
104(N)	-3232	-3514	-2565	2905	-4363	-3267	-3364	-5182	-3627	-5059	-4532	-4348	-3843	-3410	-3792	-3319	-3533	-4588	-4087	-3878	105
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
105(D)	-2358	-4145	-3182	-424	-4431	-2177	-1848	-4495	-2025	-4352	-3768	2817	-2180	-1348	-2852	-2013	-2474	-3924	-4442	-3425	106
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
106(A)	3184	-1458	-3484	-3625	-3734	-1755	-3095	-3460	-3460	-2669	-2384	-2530	-3108	-3108	-3321	1116	1557	-2359	-4008	-3849	107
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	359	117	-369	-294	-249		
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		

Tabla 5

107(N)	2080	-3282	-571	780	-3700	2286	-1530	-3842	-1203	-3718	3049	3881	2763	2235	-1546	86	359	117	-369	-294	-2909	3610	-2909	108	
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
108(O)	2342	-1862	-4034	-4526	-1839	-4657	-4129	3048	-4390	1219	-617	-4313	-4352	-4035	-4357	-3951	-3951	-2310	1756	-3416	-3152	-3416	-3152	109	
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
109(L)	-2474	-2000	-5009	-4519	-1506	-4685	3925	2021	-4370	2279	-300	-4348	-4307	-3824	-4225	-3949	-3949	2422	1754	-3097	-2958	-3097	-2958	110	
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
110(C)	2046	3245	-3519	-3309	-2421	1482	-2476	-1769	-3007	-2304	-1604	-2272	-2409	-2640	-2800	-1125	-1135	1329	-2854	-2572	-2854	-2572	-2854	-2572	111
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
111(I)	-2258	-1872	-4687	-4134	1767	-4166	3117	1820	-3850	1870	-16	-3821	-3888	-3252	-3621	-3654	-2187	1612	-2474	-2317	-2474	-2317	-2474	-2317	112
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
112(G)	-2025	-2501	-3252	-3462	-4636	3423	-3593	-4733	-3987	-4806	-4072	-3048	1823	-3667	-3934	-2240	-2455	-3689	-4320	-4583	-4320	-4583	-4320	-4583	113
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
113(E)	-1494	-2893	-395	-2314	-3675	2194	-1400	-3452	-1399	-3481	-2679	-858	-2439	-1060	-1986	1054	-1645	-2877	-3165	-2925	-3165	-2925	-3165	-2925	114
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
114(R)	-4070	-3888	-4406	-3800	-4820	3837	-3026	-5122	-1948	-4739	-4314	-3751	-4155	-2844	-3177	-4178	-4041	-4836	-3440	-4248	-3440	-4248	-3440	-4248	115
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
115(M)	-1427	-1193	-3701	-3112	-983	-3093	-2034	180	-2770	1017	2278	-2712	-3055	-2396	-2624	-2210	1347	2148	-810	-1513	-810	-1513	-810	-1513	116
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
116(I)	-1008	-880	-2823	-2346	-829	-2548	2697	1835	-2028	-678	-116	-2058	-2607	-1772	-2008	-1837	1320	2074	-1497	-1124	-1497	-1124	-1497	-1124	117
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
117(G)	-1110	-1709	-3106	-3367	-4046	3242	-3168	3842	-3502	-4106	-3252	-2451	-2702	-3156	-3425	-1346	1883	2772	-4162	-4067	-4162	-4067	-4162	-4067	118
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
118(V)	978	-1443	-4036	-3547	-1453	-3385	-2674	364	-3251	1653	-477	-3137	-3432	-2922	-3158	-2578	-1681	2482	-2440	-2125	-2440	-2125	-2440	-2125	119
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
119(E)	1257	-3580	1744	2635	-3875	-2022	-1272	-3750	-1355	-3645	-2804	-430	-2490	915	-2005	-1805	-1921	-3228	-3840	-2031	-3840	-2031	-3840	-2031	120
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
120(L)	1618	-1642	2809	1300	-1194	-3091	-2015	38	-2244	2351	-192	2386	3103	2043	-2351	-2230	-1872	1523	-2118	-1807	-2118	-1807	-2118	-1807	121
-	-148	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	45	96										
-	-10	-7714	-8756	-884	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Tabla 5

	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-218
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
135(G)	-2289	-2923	-2103	-2123	-4379	2239	-4181	1859	4078	-3400	-2188	-3219	-1932	-1577	-2354	-2488	-3582	-3803	-3582	136
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
136(G)	1377	-2300	719	1534	-3577	2593	-1598	-3339	-1577	-3413	-2905	-1073	-2447	-1275	-2089	-1324	-1539	-2684	-3628	-2295
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
137(U)	-1004	-2435	277	2184	-2726	-1440	-405	-2509	-53	-2439	-1652	-87	-1768	-2794	-483	-813	-984	-2099	-2581	-1891
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-20	-6773	-7821	-894	-1115	-701	-1378	*												
138(R)	-4070	-3968	-4409	-3893	-4820	-3637	-3026	-5122	-1946	4739	4314	-3731	-4155	-2844	-4377	-4178	-4041	-4835	-3949	-4248
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
139(H)	4402	-3961	-3921	-4171	-3231	-3025	-5493	-5488	-3992	-5013	-4849	-4130	-4378	-4151	-3893	-4548	-4592	-5195	-3383	-2818
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
140(Q)	1807	-2623	-381	-381	-3040	-1933	-848	-2179	-523	-2755	-1915	-597	-2182	-2794	-1005	-1124	-1254	-2346	-2847	-2258
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
141(H)	-1893	-2803	-2103	-1310	-3474	-2617	-907	-2883	247	-2805	-2085	-1373	-2698	1875	-3384	-1815	1244	-2674	-2793	-2506
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
142(R)	-4070	-3868	-4406	-3880	-4820	-3837	-3026	-5122	-1946	4739	4314	-3731	-4155	-2844	-4377	-4178	-4041	-4835	-3949	-4248
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
143(I)	-2294	-1775	-4915	-4589	-2348	-4888	-4596	-3838	4516	-1133	-1075	-4374	-4468	-4222	-4639	-4047	-2758	2464	-4008	-3526
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
144(E)	-1362	-2852	1820	2207	-3237	505	855	3031	644	-2955	-2100	-503	-2190	-446	1395	-1165	-1342	-2303	-3729	-2354
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
145(K)	908	-1736	-1815	-1248	-2070	-2279	-1033	1542	-2612	-1686	-1079	-1330	-2446	-804	-687	-1390	-1204	-917	-2305	-1891
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
146(I)	2723	2228	-5174	-4732	-1358	-4887	-4035	-3364	-4505	1438	-167	-4582	-4423	-3856	-4303	-4226	-2954	18	-3022	-2824
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												
147(R)	1056	-2064	1249	-109	-2476	670	-454	-2705	-62	-2199	-1301	-400	-1828	-15	-385	-649	1085	-1771	-2401	-1745
	-149	-500	233	43	-381	398	106	-626	210	-468	-720	275	394	45	96	359	117	-368	-294	-249
	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*												

Tabla 5

148(E)	2049	-2691	-641	2925	-3737	-2085	-1683	-3447	-1644	-3500	-2829	-1109	-2614	-1347	-2170	-1596	-1833	-2855	-3746	-3104	149
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-10	-7714	-8756	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
149(I)	-1835	-1485	-4226	-3745	-1377	-3738	-2668	-2865	-3461	-947	-625	-3398	-3665	-3150	-3370	-2819	-1800	1729	-2313	2304	150
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-258	-7714	-2600	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
150(F)	-3293	-3786	-1473	-3829	-4500	-2970	-2063	-4646	-264	-4501	-4279	-2142	-3486	-2508	-3255	-3136	3421	-4441	-4028	-4008	151
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-12	-7457	-8500	-894	-1115	-1422	-674	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
151(R)	1141	2442	-1246	-549	-2918	-2090	-473	-2524	1742	-2362	-1557	-744	-2135	1966	2048	-1122	-1106	-2166	-2431	-1985	152
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-12	-7457	-8500	-894	-1115	-383	-2069	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
152(W)	-116	672	45	325	-317	-673	804	-480	420	-880	-565	301	446	634	169	75	58	-423	1003	81	153
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-268	-7714	-2600	-894	-1115	-701	-1378	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
153(R)	-982	-2132	-875	-271	-2550	-1817	-363	-2214	1600	-2169	-1306	-513	-1909	48	1021	1177	1556	-1830	-2302	-2497	154
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-12	-7457	-8500	-894	-1115	-1422	674	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
154(H)	-2063	-2537	-2330	1962	-355	-2870	-4028	-2443	-365	-2250	-1763	-1614	-2893	-919	1830	-2037	-1848	-2304	-903	2497	155
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-12	-7457	-8500	-894	-1115	-1422	-674	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
155(N)	1159	-2195	-259	1967	-2630	-1608	-505	-2379	-193	-2356	-1475	1694	-1837	-80	-721	1098	-611	-1925	-2555	-1863	156
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-315	-7457	-2393	-894	-1115	-1422	-674	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
156(K)	1680	-1521	-865	-500	-2502	-1533	-757	-2176	-756	-2258	-1424	-660	-1836	-385	-644	-643	-725	-1677	-2484	-1967	157
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-398	-7158	-2039	-894	-1115	-1887	-455	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
157(N)	-790	-1650	-328	-436	-2633	-1372	-1008	-2587	-665	-2049	-1902	-2721	2673	-726	-1253	-817	-995	-2001	-2694	-2132	158
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-20	-6778	-7821	-894	-1115	-2238	-344	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
158(F)	-1068	-1976	-879	-547	-2653	-1746	-572	-2325	2405	-2286	-1551	-899	-2531	-199	96	-1053	-180	-1961	-2327	-1945	159
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-20	-6778	-7821	-894	-1115	-2238	-344	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
159(V)	-426	-819	-2080	-1971	-1792	2066	-1882	-548	-1871	-1485	-974	-1512	-1984	-1954	-1954	-748	-707	-2434	-2263	-1922	160
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-20	-6778	-7821	-894	-1115	-2238	-344	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
160(F)	-582	-884	-2096	-1808	-1505	-1633	-1594	-145	-1691	-1085	-663	-1563	-2576	-184	-1800	-950	-795	2279	-2100	-1706	161
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-20	-6778	-7821	-894	-1115	-2238	-344	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-
161(K)	-1017	-1896	-756	-549	-2759	2163	-702	-2463	2405	-2443	-1889	-704	-1863	-342	-166	-1022	-1075	-2026	-2495	-2071	162
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	626	210	-466	-720	275	394	45	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-636	-6778	-1526	-894	-1115	-2238	-344	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-

Tabla 5

162(A)	2922	-540	-1434	-1448	-1894	-835	-1345	-1218	-1400	-1722	-1180	-1009	-1484	-1273	-1485	-255	368	-799	-2185	-1887	163
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	43	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-30	-6173	-7215	-894	-1115	-2556	-269	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
163(P)	-1158	-1409	-1589	-1713	-2421	-1496	-1697	-2442	-1763	-2529	-2100	-1602	3638	-1742	-1822	-1368	-1449	-2044	-2236	-2262	184
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	43	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-30	-6173	-7215	-894	-1115	-2556	-269	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
164(A)	2922	-540	-1434	-1448	-1894	-835	-1345	-1218	-1400	-1722	-1180	-1009	-1484	-1278	-1495	-255	368	-799	-2185	-1887	185
-	-149	-500	233	43	-381	399	106	-626	210	-466	-720	275	394	43	96	359	117	-369	-294	-249	-
-	-30	-6173	-7215	-894	-1115	-162	-3233	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
165(W)	-116	672	45	325	-317	-673	804	-480	420	-880	565	301	-446	634	168	-75	58	-423	1003	81	186
-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

¹Nombre del programa y versión

²Nombre del archivo de alineamiento de secuencias de entrada

³Longitud del alineamiento; incluye inserciones o supresiones

⁴Tipo de restos

⁵Mapa de los estados de coincidencia a las columnas del alineamiento

⁶Comandos usados para generar el archivo: éste significa que se aplicó hmmbuild (parámetros por omisión) al archivo de alineamiento

⁷Comandos usados para generar el archivo: éste significa que se aplicó hmmscalibrate (parámetros por omisión) al perfil hmm

⁸Número de secuencias en el alineamiento

⁹Cuándo se generó el archivo

¹⁰La distribución de probabilidades de transición para el modelo nulo (estado G único)

¹¹La distribución de probabilidades de emisión de símbolos para el modelo nulo (estado G): consiste en K números enteros. La probabilidad nula utilizada para convertir estos de nuevo en probabilidades del modelo es 1/K

¹²Los parámetros μ y λ de la distribución de valores extremos, respectivamente, ambos valores de coma flotante. Lambda es positivo y no es cero. Estos valores se ajustan cuando el modelo se calibra con hmmscalibrate.

REIVINDICACIONES

1. Una célula huésped bacteriana recombinante que comprende:
- a) una ruta metabólica de la xilosa que comprende al menos un gen que codifica un polipéptido que presenta actividad xilosa isomerasa;
- 5 b) al menos un gen que codifica un polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa; y
- c) al menos una modificación genética que aumenta la expresión de la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en la célula huésped en comparación con la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa en la célula huésped que carece de dicha modificación genética;
- 10 en donde la célula huésped bacteriana utiliza xilosa para producir etanol, y en donde la célula huésped bacteriana es seleccionada del grupo que consiste en *Zymomonas* y *Zymobacter*, y en donde la al menos una modificación genética de la operación (c) comprende aumentar el número de copias génicas de un gen que codifica un polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa y/o hacer que se exprese dicho gen que codifica ribosa-5-fosfato isomerasa a partir de un promotor de alta expresión.
2. La célula huésped recombinante de la Reivindicación 1, en donde la al menos una modificación genética de la operación (c) es
- 15 (i) sobreexpresión de un gen endógeno que codifica un polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa, y/o
- (ii) expresión de al menos un gen no endógeno que codifica un polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa.
- 20 3. El microorganismo recombinante de la Reivindicación 1 o 2, en donde el polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa tiene la clasificación de la EC: EC 5.3.1.6.
4. La célula huésped recombinante de la Reivindicación 3, en donde el polipéptido que presenta actividad ribosa-5-fosfato isomerasa es seleccionado del grupo que consiste en ribosa-5-fosfato isomerasa A y ribosa-5-fosfato isomerasa B.
- 25 5. La célula huésped recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en donde el polipéptido ribosa-5-fosfato isomerasa A:
- i) proporciona una puntuación del valor E de 0,1 o menos cuando se hace la búsqueda empleando un perfil de modelo oculto de Markov preparado usando las ID. SEC. números 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96 y 97; llevándose a cabo la búsqueda utilizando el algoritmo hmmsearch en el que se ajusta el parámetro Z a 1000 millones, y
- 30 ii) tiene ácido aspártico y ácido glutámico en las posiciones que corresponden a 107 y 129, respectivamente, en la proteína RPI-A de *Saccharomyces cerevisiae* de ID. SEC. nº 97.
6. La célula huésped recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en donde la ribosa-5-fosfato isomerasa A tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos 90% con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las ID. SEC. números 83 a 1212 basándose en el método Clustal W de alineamiento al usar los parámetros por omisión de PENALIZACIÓN POR HUECO = 10, PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 0,1, y serie Gonnet 250 de matriz ponderada para proteínas, en donde la ribosa-5-fosfato isomerasa A tiene preferiblemente una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos 90% con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las ID. SEC. números 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96 y 97 basándose en el método Clustal W de alineamiento al usar los parámetros por omisión de PENALIZACIÓN POR HUECO = 10, PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 0,1, y serie Gonnet 250 de matriz ponderada para proteínas.
- 40 7. La célula huésped recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en donde el polipéptido ribosa-5-fosfato isomerasa B:
- 45 i) proporciona una puntuación del valor E de 0,1 o menos cuando se hace la búsqueda empleando un perfil de modelo oculto de Markov preparado usando las ID. SEC. números 1213, 1214, 1215, 1216 y 1217; llevándose a cabo la búsqueda utilizando el algoritmo hmmsearch en el que se ajusta el parámetro Z a 1000 millones;
- ii) o bien tiene cisteína y treonina en las posiciones que corresponden a 66 y 68, respectivamente, en la proteína RPI-B de *E. coli* de ID. SEC. nº 1216, o bien tiene serina y ácido glutámico en las posiciones que corresponden a 68 y 72, respectivamente, en la proteína RPI-B de *M. tuberculosis* de ID. SEC. nº 1213; y
- 50

iii) tiene asparagina, glicocola, ácido aspártico, serina o ácido glutámico, pero no leucina, en la posición que corresponde a 100 en la proteína RPI-B de *E. coli* de ID. SEC. nº 1216.

5 8. La célula huésped recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en donde la ribosa-5-fosfato isomerasa B tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos 90% con respecto a una
 10 secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las ID. SEC. números 1213 a 2107 basándose en el método Clustal W de alineamiento al usar los parámetros por omisión de PENALIZACIÓN POR HUECO = 10, PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 0,1, y serie Gonnet 250 de matriz ponderada para proteínas, en donde la ribosa-5-fosfato isomerasa B tiene preferiblemente una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos 90% con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las ID. SEC. números 1213, 1214, 1215, 1216 y 1217 basándose en el método Clustal W de alineamiento al usar los parámetros por omisión de PENALIZACIÓN POR HUECO = 10, PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 0,1, y serie Gonnet 250 de matriz ponderada para proteínas.

15 9. La célula huésped recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, en donde dicho microorganismo comprende además al menos una modificación genética que aumenta la actividad xilosa isomerasa en comparación con la actividad xilosa isomerasa en el microorganismo que carece de dicha modificación genética.

10. La célula huésped recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, en donde el gen que codifica un polipéptido que presenta actividad xilosa isomerasa está sobreexpresado.

11. El microorganismo recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, en donde el gen que codifica un polipéptido que presenta actividad xilosa isomerasa se expresa en múltiples copias.

20 12. La célula huésped recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, en donde el polipéptido que presenta actividad xilosa isomerasa es seleccionado de entre:

25 (i) una proteína que tiene una puntuación del valor E inferior o igual a 3×10^{-10} cuando se hace la búsqueda empleando un perfil HMM preparado usando las ID. SEC. números 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79 y 81 y que tiene cuatro restos de sitio catalítico: histidina 54, ácido aspártico 57, ácido glutámico 181 y lisina 183, con los números de posición en relación con la secuencia de xilosa isomerasa de *Streptomyces albus* de ID. SEC. nº 61; y

30 (ii) un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos 90% con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las ID. SEC. números 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79 y 81 basándose en el método Clustal W de alineamiento al usar los parámetros por omisión de PENALIZACIÓN POR HUECO = 10, PENALIZACIÓN POR LONGITUD DE HUECO = 0,1, y serie Gonnet 250 de matriz ponderada para proteínas.

13. Un proceso para producir etanol, que comprende:

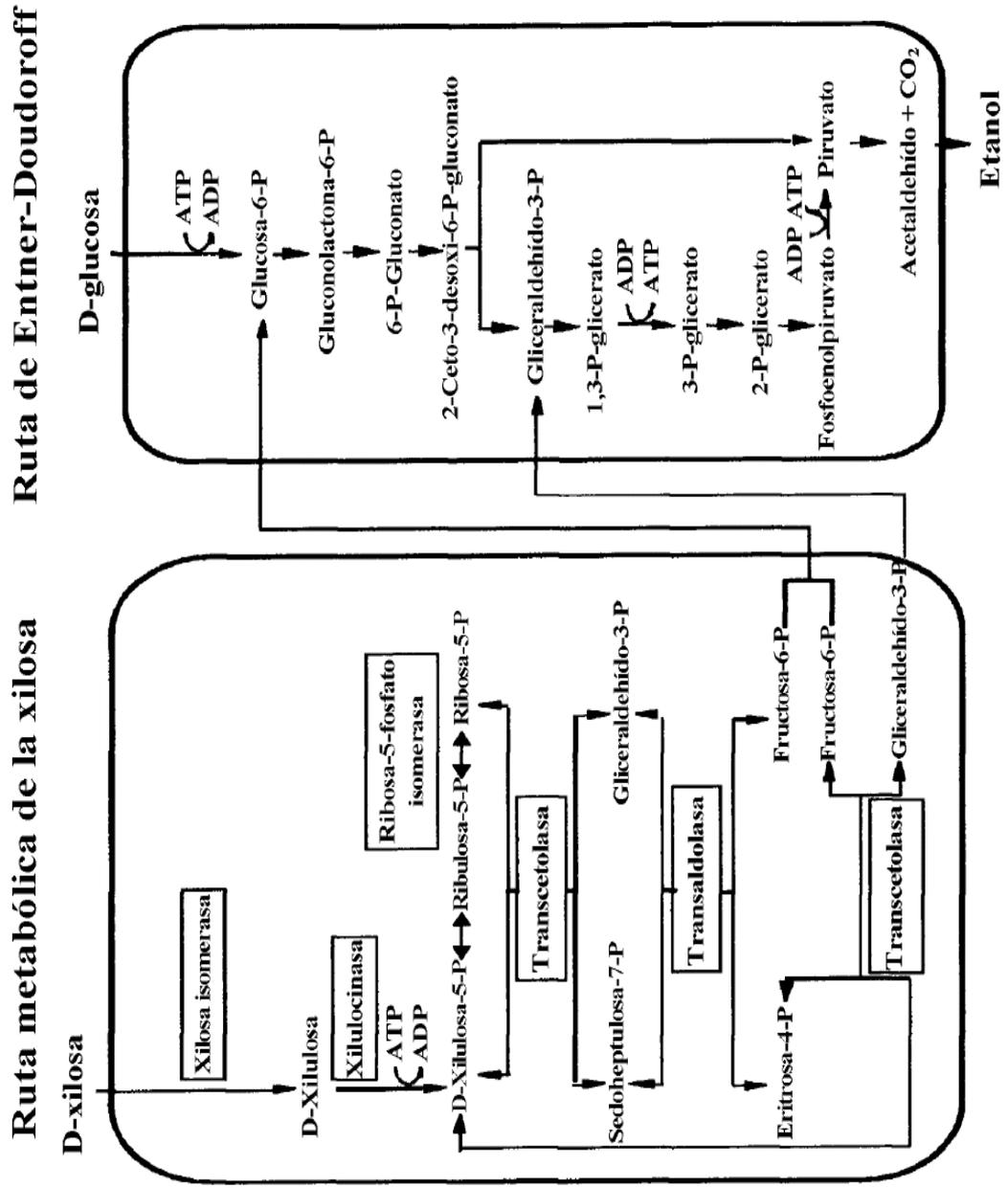
a) proporcionar una célula huésped bacteriana recombinante de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 12; y

35 b) cultivar la célula huésped bacteriana de (a) en un medio que comprende xilosa, mediante lo cual se convierte la xilosa en etanol.

14. El proceso de la Reivindicación 13, en donde la actividad ribosa-5-fosfato isomerasa es la actividad de un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en ribosa-5-fosfato isomerasa A y ribosa-5-fosfato isomerasa B.

15. El proceso de la Reivindicación 14, en donde el medio comprende o bien una mezcla de azúcares que incluye xilosa o bien xilosa como único azúcar.

Figura 1



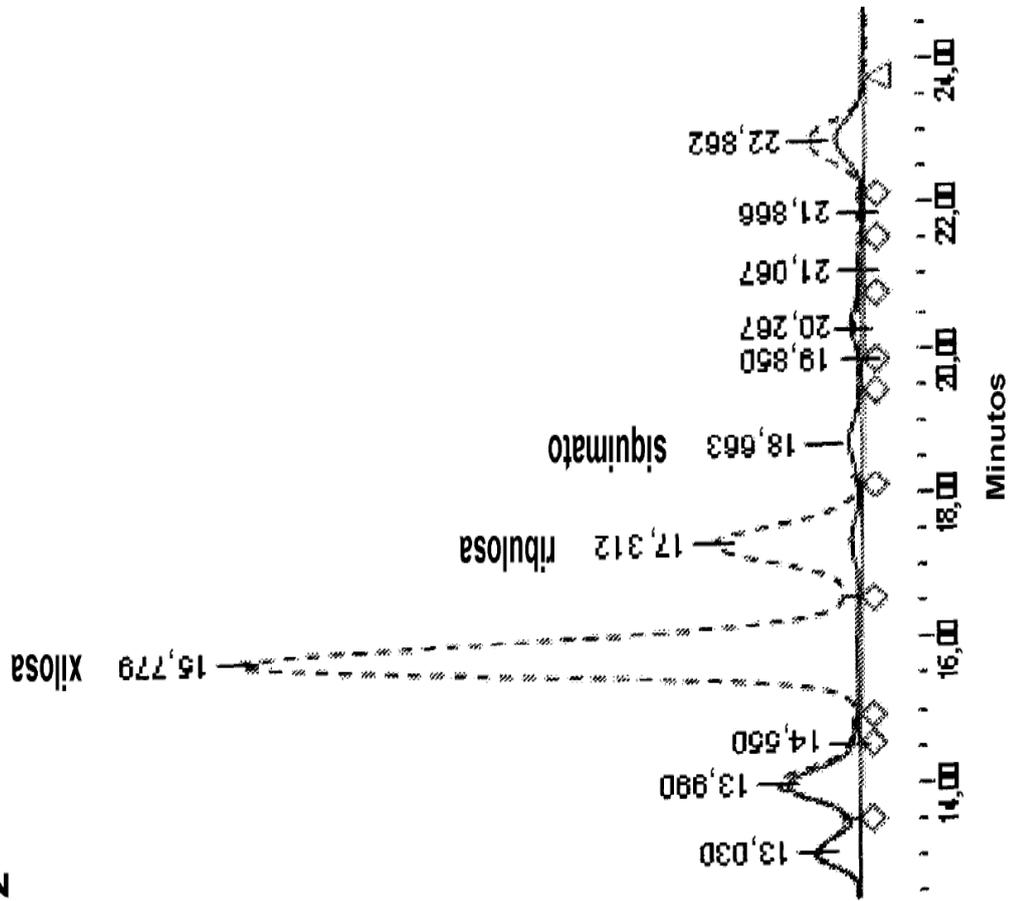


Figura 2

Figura 3

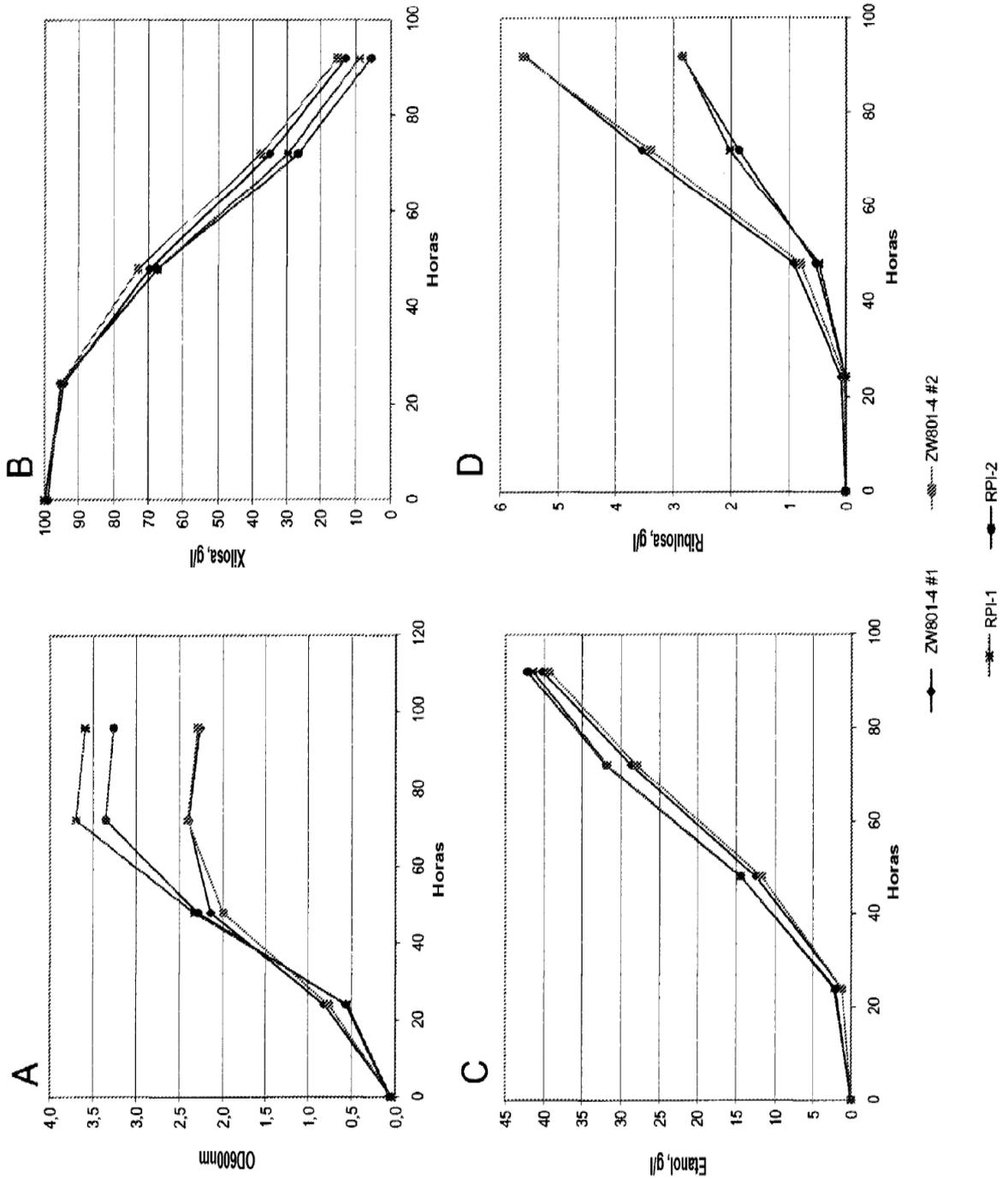


Figura 4

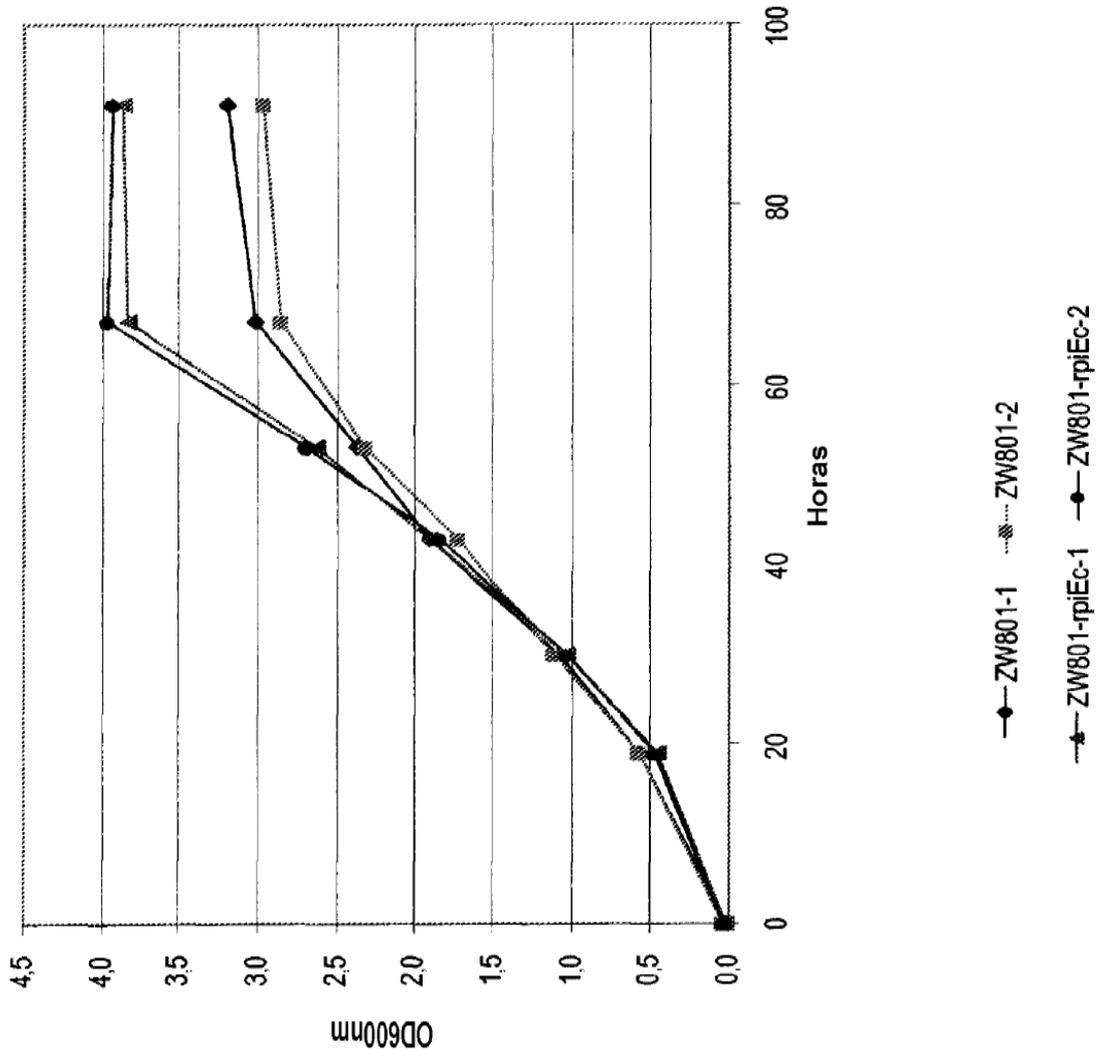


Figura 5

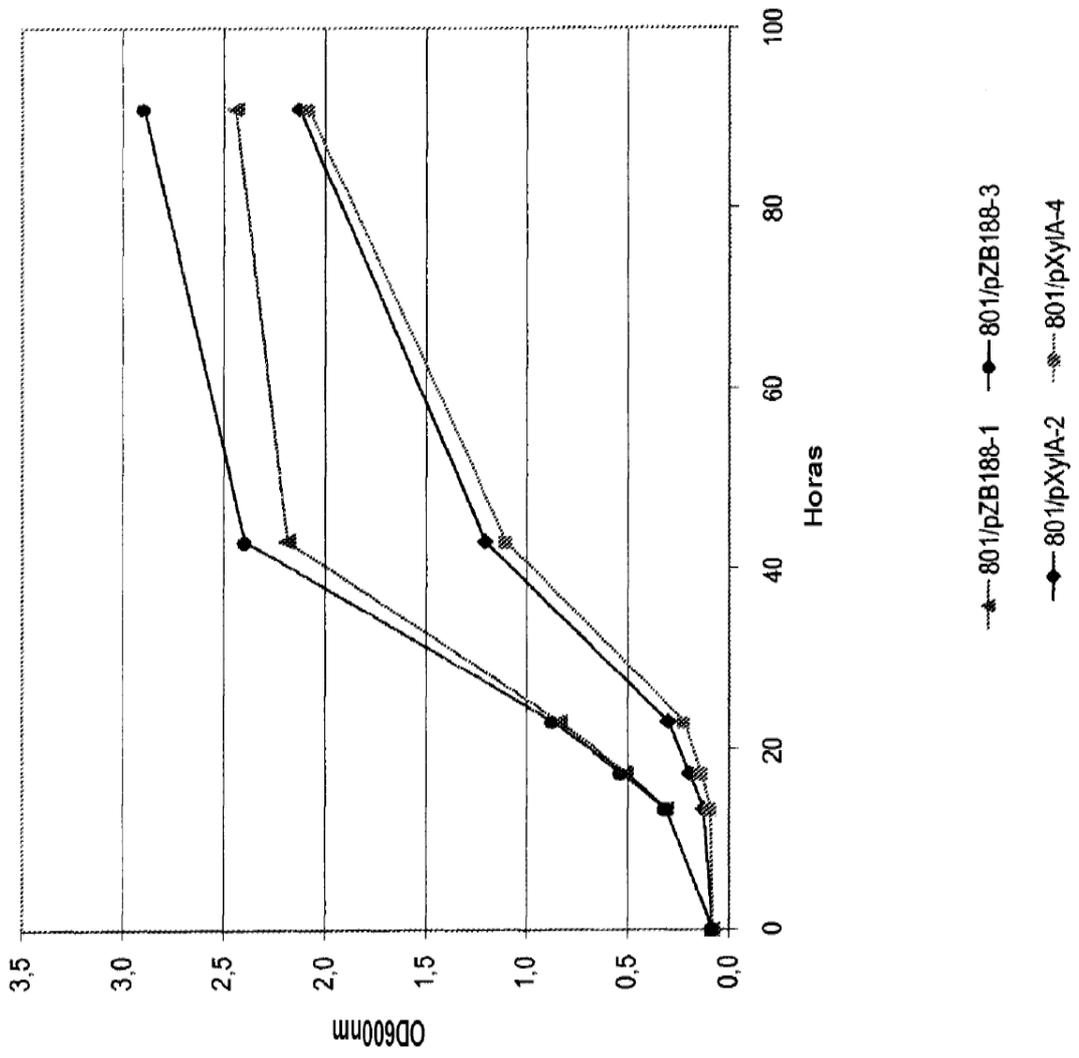


Figura 6

