# Strukturbestimmung von Birkenpollenallergenen und birkenpollenassoziierten Nahrungsmittelallergenen mit NMR-Spektroskopie

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth

vorgelegt von

Diplom-Physiker
Philipp Bruno Neudecker

aus Hof/Saale

Bayreuth 2003

Die vorliegende Arbeit wurde von September 2000 bis Juli 2003 am Lehrstuhl für Struktur und Chemie der Biopolymere unter der Leitung von Prof. Dr. Paul Rösch angefertigt.

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften.

Promotionsgesuch eingereicht am: 11. 7. 2003
Tag des wissenschaftlichen Kolloquiums: 19. 12. 2003
Erster Gutachter: Prof. Dr. Paul Rösch
Zweiter Gutachter: PD Dr. Jochen Balbach

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Allergien vom Typ I	1
1.1.1 Immunologischer Mechanismus	1
1.1.2 Therapie	3
1.1.3 Biochemische und biophysikalische Fragestellungen	4
1.2 Birkenpollenallergene und birkenpollenassoziierte Nahrungsmittelallergene	5
1.2.1 Bet v 1 und verwandte Allergene	6
1.2.1.1 Isoformen von Bet v 1	6
1.2.1.2 Kreuzreaktionen auf mit Bet v 1 verwandte Nahrungsmittelallergene	7
1.2.1.3 Kreuzreaktive IgE-Epitope des Hauptallergens der Kirsche Pru av 1 wt	9
1.2.1.4 Die PR-10-Familie von mit Krankheitsbefall zusammenhängenden	
Proteinen	14
1.2.1.5 Die START-Superfamilie	24
1.2.2 Bet v 2 und verwandte Allergene	30
1.2.3 Bet v 3	32
1.2.4 Bet v 4 und verwandte Allergene	36
1.2.5 Bet v 6 und verwandte Allergene	43
1.2.6 Bet v 7	46
2. Ziele der Arbeit	47
2.1 Motivation	47
2.2 Untersuchungen zur physiologischen Funktion von Pru av 1 wt	47
2.3 Analyse der kreuzreaktiven IgE-Epitope von Pru av 1 und Api g 1.0101	48
2.4 Strukturbestimmung von Gly m 4	49
2.5 Strukturbestimmung von holo Bet v 4	49
2.6 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Pyr c 5	50
2.7 Methodische Aspekte der Strukturberechnung	50
3. Materialien und Methoden	51
3.1 NMR-Spektroskopie	51
3.1.1 NMR-Proben	51
3.1.2 Allgemeine Messbedingungen	53
3.1.3 Aufnahme der Spektren	54
3.1.4 Prozessierung und Auswertung der Spektren	63
3.1.5 Gewinnung der Strukturinformationen	64

3.1.5.1 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen	64
3.1.5.2 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten	66
3.1.5.3 Identifizierung von Wasserstoffbrücken	68
3.1.5.4 Dipolare Kopplungskonstanten	70
3.1.5.4.1 Theoretische Beschreibung	70
3.1.5.4.2 Experimentelle Bestimmung	73
3.1.5.5 Heteronukleare NOEs	75
3.1.5.6 Untersuchung der Wechselwirkung von Pru av 1 wt mit Steroiden	75
3.1.5.7 Untersuchung der Bindung von Calcium an Bet v 4	77
3.1.5.8 Hydrodynamische Radien aus der Translationsdiffusion	78
3.1.5.9 Analyse der Sekundärstruktur nach Wishart	79
3.2 Strukturberechnung mit Hilfe der Moleküldynamik	81
3.2.1 Methoden zur Strukturberechnung auf der Basis experimenteller Daten	81
3.2.2 Verwendete physikalische Potentialterme	83
3.2.2.1 Bindungslängen	83
3.2.2.2 Bindungswinkel	83
3.2.2.3 Diederwinkel, Planarität und Chiralität	84
3.2.2.4 Modellierung der Koordination der Calciumionen durch die EF-Hände	84
3.2.2.5 Nichtkovalente Wechselwirkungen	85
3.2.3 Verwendete experimentelle Potentialterme	86
3.2.3.1 Abstandsbeschränkungen	87
3.2.3.2 Beschränkungen der Diederwinkel	88
3.2.3.3 Dipolare Kopplungskonstanten	89
3.2.3.4 Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne	90
3.2.3.5 Datenbank-Term	90
3.2.3.6 Gyrationsradius-Term	92
3.2.4 Durchführung der Strukturberechnung	93
3.2.5 Modellierung der Struktur von Gly m 4	95
3.2.6 Modellierung der Komplexstruktur von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit	
Lipidliganden	96
3.3 Strukturanalyse	99
3.3.1 Verwendete Software	99
3.3.2 Vollständige Kreuzvalidierung	99

4. Experimente und Ergebnisse	
4.1 Heteronukleare NOEs von Pru av 1 wt	
4.2 Wechselwirkung von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Lipidliganden	
4.2.1 Untersuchung der Wechselwirkung von Pru av 1 wt mit Steroiden	n105
4.2.2 Modellierung der Komplexstruktur von Bet v 1 und Pru av 1 wt m	nit
Lipidliganden	109
4.3 Verbesserung der Effizienz des gaußförmigen Datenbank-Potentials	116
4.4 Korrektur der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie	119
4.5 Strukturelle Untersuchung von Mutanten von Pru av 1 und Api g 1.010	1123
4.5.1 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Mutanten von Pru	av 1 und
Api g 1.0101	
4.5.2 Strukturbestimmung von Pru av 1 E45W	
4.5.2.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen und Bestimn	nung der
skalaren Kopplungskonstanten	
4.5.2.2 Experimentelle Strukturinformationen	
4.5.2.3 Berechnete Strukturen	
4.6 Strukturbestimmung von Gly m 4	
4.6.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen und Bestimmung	der skalaren
Kopplungskonstanten	
4.6.2 Experimentelle Strukturinformationen	
4.6.2.1 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstante	en137
4.6.2.2 Dipolare Kopplungskonstanten	
4.6.2.3 Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne	
4.6.2.4 Analyse der Sekundärstruktur auf der Grundlage der experim	entellen
Daten	
4.6.3 Modellierung der Struktur von Gly m 4	140
4.6.4 Vergleich des Homologiemodells von Gly m 4 mit bekannten Stru	ıkturen von
Bet v 1, Pru av 1 wt sowie LlPR10.1A und LlPR10.1B	146
4.7 Strukturbestimmung von holo Bet v 4	
4.7.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen und Bestimmung	der skalaren
Kopplungskonstanten	148
4.7.2 Experimentelle Strukturinformationen	152
4.7.2.1 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen	
4.7.2.2 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstante	en156

4.7.2.3 Identifizierung von Wasserstoffbrücken	156
4.7.2.4 Dipolare Kopplungskonstanten	159
4.7.2.5 Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne	159
4.7.2.6 Analyse der Sekundärstruktur auf der Grundlage der experimentellen	
Daten	159
4.7.3 Berechnete Strukturen	162
4.7.3.1 Mit dipolaren Kopplungskonstanten berechnete Strukturen	162
4.7.3.2 Ohne dipolare Kopplungskonstanten berechnete Strukturen	178
4.7.3.3 Für die vollständige Kreuzvalidierung berechnete Strukturen	181
4.7.4 Untersuchung der Bindung von Calcium an Bet v 4	183
4.7.5 Hydrodynamische Radien aus der Translationsdiffusion	185
4.7.6 Vergleich der Strukturen von holo Bet v 4 und holo Phl p 7	188
4.7.7 Vergleich der Struktur von holo Bet v 4 mit bekannten Strukturen anderer	
EF-Hand-Proteine	189
4.8 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Pyr c 5	194
5. Diskussion	197
5.1 Verbesserung der Effizienz des gaußförmigen Datenbank-Potentials	197
5.2 Korrektur der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie	198
5.3 Wechselwirkung von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Lipidliganden	200
5.3.1 Untersuchung der Wechselwirkung von Pru av 1 wt mit Steroiden	200
5.3.2 Modellierung der Komplexstruktur von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit	
Lipidliganden	201
5.3.3 Implikationen für die physiologische Funktion im Kontext aktueller	
Entwicklungen	204
5.4 Analyse der kreuzreaktiven IgE-Epitope von Pru av 1 und Api g 1.0101	208
5.4.1 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Mutanten von Pru av 1 und	
Api g 1.0101	208
5.4.2 Immunologische Charakterisierung	209
5.4.3 Strukturbestimmung von Pru av 1 E45W und Implikationen für die	
immunologische Bedeutung der P-Schleife	212
5.5 Strukturbestimmung von Gly m 4	217
5.5.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen	217
5.5.2 Experimentelle Strukturinformationen und Homologiemodellierung	218

5.5.3 Anwendbarkeit des Least-Squares-Fits zur Bestimmung des	
Vorzugsorientierungstensors	219
5.5.4 Energieminimierung des Homologiemodells mit den bereits zur Verfügung	
stehenden experimentellen Randbedingungen	225
5.6 Strukturbestimmung von holo Bet v 4	226
5.6.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen	226
5.6.2 Experimentelle Strukturinformationen	227
5.6.3 Analyse der Qualität der berechneten Strukturen	228
5.6.4 Koordination der beiden Calciumionen	229
5.6.5 Konformation der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife	233
5.6.6 Untersuchung der Bindung von Calcium an Bet v 4	236
5.6.7 Oligomerisierungszustand	238
5.6.8 Epitopanalyse	243
5.6.9 Implikationen für die physiologische Funktion	246
5.7 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Pyr c 5	249
5.8 Ausblick	250
6. Zusammenfassung	255
7. Summary	259
8. Abkürzungen	263
9. Literatur	267
10. Anhang	301
10.1 Chemische Verschiebungen	301
10.1.1 Chemische Verschiebungen von Pru av 1 E45W	301
10.1.2 Chemische Verschiebungen von Gly m 4	310
10.1.3 Chemische Verschiebungen von Bet v 4	319
10.2 J-Kopplungskonstanten	324
10.2.1 J-Kopplungskonstanten von Pru av 1 E45W	324
10.2.2 J-Kopplungskonstanten von Gly m 4	325
10.2.3 J-Kopplungskonstanten von Bet v 4	327
10.3 Dipolare Kopplungskonstanten	327
10.3.1 Dipolare Kopplungskonstanten von Gly m 4	328
10.3.2 Dipolare Kopplungskonstanten von Bet v 4	329
10.4 Heteronukleare NOEs von Pru av 1 wt	330
10.5 Experimentelle Randbedingungen	331
10.5.1 Experimentelle Randbedingungen für Pru av 1 E45W	332

10.5.1.1 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D- <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-NOESY-HSQC	332
10.5.1.2 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-NOESY-HSQC	342
10.5.1.3 Abstandsbeschränkungen aus dem <sup>15</sup> N-gefilterten 2D-NOESY	343
10.5.1.4 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten	345
10.5.1.5 Abstandsbeschränkungen aus der Identifizierung von	
Wasserstoffbrücken	346
10.5.2 Experimentelle Randbedingungen für Gly m 4	346
10.5.2.1 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten	346
10.5.2.2 Dipolare Kopplungskonstanten	347
10.5.2.3 Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne	350
10.5.3 Experimentelle Randbedingungen für Bet v 4	353
10.5.3.1 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D- <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-NOESY-HSQC	353
10.5.3.2 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-NOESY-HSQC	360
10.5.3.3 Abstandsbeschränkungen aus dem 2D-NOESY in D2O	360
10.5.3.4 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten	361
10.5.3.5 Abstandsbeschränkungen aus der Identifizierung von	
Wasserstoffbrücken	362
10.5.3.6 Dipolare Kopplungskonstanten	362
10.5.3.7 Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne	364
10.5.4 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen von	
Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Steroiden	365
10.5.5 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen von	
Bet v 1 und Pru av 1 wt mit PtdCho	366
10.6 Topologie-, Parameter- und Protokolldateien für X-PLOR	366
10.6.1 Topologiedatei topallhdg.hs	366
10.6.2 Topologiedatei topo.ca2+	366
10.6.3 Parameterdatei parallhdg_min.pn	367
10.6.4 Parameterdatei parameter.ca2+	367
10.6.5 Protokolldatei generate_structure.inp	368
10.6.6 Protokolldatei generate_ca2+.inp	368
10.6.7 Protokolldatei make_cluster.inp	369
10.6.8 Protokolldatei sa_betv4.inp	370
10.6.9 Protokolldatei min_sam22_sani_j.inp	374
10.6.10 Topologiedatei cast_top.txt	378

10.6.11 Parameterdatei cast_par.txt	378
10.6.12 Topologiedatei DHO_top.txt	378
10.6.13 Parameterdatei DHO_par.txt	378
10.6.14 Topologiedatei PC2_top.txt	378
10.6.15 Parameterdatei PC2_par.txt	378
11. Danksagung	379
12. Lebenslauf	381
13. Erklärung	383

### 1. Einleitung

### 1.1 Allergien vom Typ I

### 1.1.1 Immunologischer Mechanismus

Bei Allergien (zusammengesetzt aus den beiden griechischen Wörtern  $\alpha\lambda\lambda$ oc, anders und εργον, Arbeit) handelt es sich um Überempfindlichkeitsreaktionen des Immunsystems auf eigentlich harmlose Proteine oder andere Substanzen, die so genannten Allergene. Allergien sind in vier Klassen unterteilt (Kuby 1992, Kapitel 16; Janeway et al. 1999, Kapitel 12); die in dieser Arbeit betrachteten Allergene sind in der Lage, Allergien vom Typ I auszulösen, für die das Auftreten von Antikörpern vom Isotyp E (IgE) kennzeichnend ist. Allergieerkrankungen vom Typ I wie allergische Rhinitis (Heuschnupfen), Asthma, Urticaria, orales Allergiesyndrom (OAS) und systemische Anaphylaxis mit Symptomen von der laufenden Nase und dem lästigen Juckreiz bis hin zum lebensgefährlichen anaphylaktischen Schock quälen in den Industrieländern mittlerweile fast 25 % der Bevölkerung (Verdino et al. 2002) und gehören damit wohl zu den häufigsten Erkrankungen überhaupt. Trotz der in den meisten klinischen Studien offensichtlichen genetischen Prädisposition kennzeichnet der rasante Anstieg in den Industrieländern (die Häufigkeit von Asthma in den USA hat allein in den Jahren 1980 bis 1994 um etwa 75 % zugenommen) bei gleichbleibender Seltenheit in den Entwicklungsländern Allergien als eine ausgeprägte Zivilisationskrankheit (zusammengefasst in Kay 2001a; Wills-Karp et al. 2001).

Voraussetzung für solche allergische Reaktionen vom Typ I ist die Sensibilisierung eines Patienten auf das jeweilige Allergen, d. h. die Bildung von für bestimmte Bereiche auf der Moleküloberfläche des Allergens, die so genannten Epitope, spezifischen IgE-Antikörpern nach einem ersten Kontakt mit dem Allergen. Diese von B-Lymphozyten gebildeten IgE-Antikörper werden sekretiert und ihr IgE-typischer Fc-Stamm vor allem von Mastzellen, aber auch von Basophilen und manchmal von Eosinophilen mit Hilfe des hochaffinen FccRI-Rezeptors (Garman et al. 2000) auf der Zelloberfläche gebunden und exponiert (Kuby 1992, Kapitel 16; Janeway et al. 1999, Abschnitt 12-3). Im Serum findet man IgE-Antikörper hingegen nur in weit geringeren Konzentrationen als die anderen Isotypen M, G, D und A (Kuby 1992, Kapitel 5; Janeway et al. 1999, Abschnitt 3-19). Kommt der Patient nun beispielsweise durch Inhalation, Aufnahme mit der Nahrung, Hautkontakt oder Injektion erneut in Kontakt mit dem Allergen und präsentiert dieses Allergen mindestens zwei nicht überlappende IgE-Epitope, so können zwei auf der Oberfläche einer Mastzelle gebundene IgE-Antikörper durch gleichzeitige Bindung des Allergens quervernetzt werden. Diese Quervernetzung löst mehrere Signaltransduktionskaskaden aus, die die Mastzelle aktivieren und zur Degranulation veranlassen, d. h. die Mastzelle setzt die in ihren zytoplasmatischen Granula gespeicherten Mediatoren wie Histamin, Heparin und Serotonin frei uns synthetisiert zudem eine Reihe weiterer Botenstoffe wie Leukotriene, Prostaglandine und Zytokine sowie einige Enzyme (Kuby 1992, Kapitel 16; Janeway et al. 1999, Abschnitt 9-20 und Kapitel 12). Die Ausschüttung dieser Substanzen löst schließlich je nach Gewebe, in dem der Kontakt mit dem Allergen stattfindet, bestimmte Entzündungsreaktionen aus, die zu den beobachteten allergischen Symptomen führen.

Kommt der Patient in Kontakt mit einem Protein, das mit dem sensibilisierenden Allergen so eng verwandt ist, dass mindestens zwei der IgE-Epitope auch auf seiner Moleküloberfläche existieren, so kann dieses Protein durch eine Kreuzreaktion mit den IgE-Antikörpern ebenfalls eine allergische Reaktion auslösen. Solche allergischen Kreuzreaktionen treten bei Familien von Allergenen ähnlicher physiologischer Funktion, aber aus verschiedenen tierischen und/oder pflanzlichen Organismen sehr häufig auf (zusammengefasst in Aalberse et al. 2001). Es ist offensichtlich, dass die Vielzahl dieser Kreuzreaktionen die genaue Diagnose sehr erschwert und bei manchen Patienten eine immense Einschränkung der Lebensqualität bedingt, da die meisten Patienten deswegen gegen eine ganze Reihe verschiedener Tiere, Pollen und/oder Nahrungsmittel allergisch sind.

Die physiologische Funktion dieser auf IgE-Antikörpern beruhenden Immunantwort ist noch nicht ganz klar, scheint aber zur Abwehr von Parasiten beizutragen (Janeway et al. 1999, Abschnitt 9-21). Sowohl von Makrophagen durch Phagozytose in intrazelluläre Vesikel aufgenommene Pathogene als auch durch Antikörper auf der Oberfläche von B-Lymphozyten erkannte und anschließend in intrazelluläre Vesikel aufgenommene extrazelluläre Pathogene und Toxine werden durch Proteasen in Peptide von bis zu etwa 17 Aminosäuren verdaut, an die Zelloberfläche transportiert und dort durch MHCII-Moleküle den T<sub>H</sub>-Lymphozyten präsentiert, von denen manche mit ihrem antigenspezifischen T-Zell-Rezeptor zusammen mit dem CD4-Korezeptor den MHCII-Peptid-Komplex erkennen (Janeway et al. 1999, Kapitel 4 und 8). Allerdings erfolgt die durch diese Erkennung ausgelöste Differenzierung der für das Peptid spezifischen T<sub>H</sub>-Lymphozyten durch noch nicht vollständig geklärte Mechanismen bei Makrophagen vor allem hin zu T<sub>H</sub>1-Lymphozyten, die durch Sekretion vor allem hin zu T<sub>H</sub>2-Lymphozyten, die durch Sekretion vor allem hin zu T<sub>H</sub>2-Lymphozyten, die durch Sekretion vor allem hin zu T<sub>H</sub>2-Lymphozyten, die durch Sekretion vor allem hin zu T<sub>H</sub>2-

zur Produktion von Antikörpern anregen (Janeway et al. 1999, Kapitel 8). Während bei gesunden Menschen der Kontakt mit einem potentiellen Allergen über die Differenzierung hin zu  $T_H1$ -Lymphozyten zu einer schwachen Immunantwort mit lediglich geringer Produktion von allergenspezifischen Antikörpern vor allem des Isotyps G führt, beobachtet man bei Allergikern eine Differenzierung hin zu  $T_H2$ -Lymphozyten und in der Folge eine massive Steigerung der Produktion von allergenspezifischen Antikörpern Antikörpern insbesondere auch des Isotyps E (Janeway et al. 1999, Kapitel 12; Strannegård und Strannegård 2001; Kay 2001a; Wills-Karp et al. 2001).

### 1.1.2 Therapie

Soweit praktikabel besteht die wirkungsvollste Therapie nach wie vor aus einer strikten Vermeidung der für den Patienten relevanten Allergene, etwa durch eine Diät im Falle einer Nahrungsmittelallergie. Dies wird jedoch durch die Vielzahl der möglichen Kreuzreaktionen (siehe oben) und durch die extreme Sensitivität der allergischen Immunantwort, für die selbst durch Verunreinigungen der Produktionsmaschinen im Rahmen der heute üblichen industriellen Nahrungsmittelproduktion eingeschleppte Spuren eines allergenhaltigen anderen Nahrungsmittels ausreichend sein können (Eigenmann 2001), sehr erschwert.

Bei vielen Patienten, insbesondere bei solchen mit allergischer Rhinitis (Heuschnupfen), gelingt es auch, die Toleranz des Patienten gegenüber einem bestimmten Allergen durch Anregung der auf Differenzierung hin zu  $T_H$ 1-Lymphozyten und Produktion von IgG-Antikörpern beruhenden normalen Immunantwort durch wiederholte Injektion eines Impfstoffs basierend auf diesem (evtl. modifizierten) Allergen in zunehmender Dosierung zu erhöhen (Valenta et al. 1999; Kay 2001b). Diese so genannte spezifische Immuntherapie oder Hyposensibilisierung schlägt jedoch häufig fehl und führt zudem das Risiko von teilweise schwerwiegenden anaphylaktischen Nebenwirkungen (Valenta et al. 1999; Kay 2001b) und von neuen Sensibilisierungen auf andere Komponenten des Impfstoffs (Movérare et al. 2002) mit sich, ist allerdings die bisher einzige ursächlich heilend wirkende Therapie, da sich neuere Therapieansätze wie der Einsatz von Antikörpern gegen die IgE-Antikörper des Patienten oder eine medikamentöse Regulierung der beteiligten Zytokine (z. B. die Inhibition von IL-4 und/oder IL-5) noch in der Erprobungsphase befinden (zusammengefasst in Kay 2001b).

Ansonsten lassen sich nur der Ausbruch der allergischen Immunreaktion und seine Symptome medikamentös lindern, etwa durch Corticosteroide, die durch Regulation der Transkription einer Reihe von Genen die Produktion mehrerer Zytokine reduzieren (Janeway et al. 1999, Abschnitt 14-1), durch Antihistamine, die den Histamin-H1-Rezeptor blockieren, oder durch Epinephrin (Adrenalin) und/oder  $\beta$ -Blocker, die unter anderem die die Verengung der Bronchien und Blutgefäße verursachende Muskelkontraktion lösen (Janeway et al. 1999, Abschnitt 12-15; Kay 2001b).

### 1.1.3 Biochemische und biophysikalische Fragestellungen

Da das Immunsystem menschlicher Föten im Uterus über die Plazenta vor allem durch extrazelluläre Antigene stimuliert wird und deswegen bei Neugeborenen eine Neigung zur Differenzierung hin zu  $T_{\rm H}$ 2-Lymphozyten zu beobachten ist, wohingegen die Differenzierung hin zu T<sub>H</sub>1-Lymphozyten vorwiegend durch Kontakt mit Mikroben gefolgt von deren Phagozytose durch Makrophagen stimuliert wird, geht die im Augenblick wohl aussichtsreichste Hypothese zur Erklärung der extremen Zunahme dieser Allergieerkrankungen in den letzten Jahren davon aus, dass die auf Differenzierung hin zu T<sub>H</sub>1-Lymphozyten und Produktion von IgG-Antikörpern beruhende normale Immunantwort von in den Industrieländern aufwachsenden Kindern durch verbesserte Hygiene zu wenig stimuliert wird (zusammengefasst in Strannegård und Strannegård 2001; Kay 2001a; Kay 2001b; Wills-Karp et al. 2001), und in der Tat scheinen in ländlichem Umfeld aufgewachsene Patienten seltener von solchen Allergien betroffen zu sein (zusammengefasst in Braun-Fahrländer 2002). Der genaue tatsächliche Mechanismus dieser Immunmodulation wird jedoch noch kontrovers diskutiert (Wills-Karp et al. 2001), zumal noch nicht einmal klar ist, warum nur eine relativ geringe Anzahl pflanzlicher und tierischer Proteinfamilien eine hohe klinische Relevanz als Allergene zeigt, obwohl prinzipiell jedes körperfremde Protein eine Immunantwort provozieren kann. Neben technischen Gesichtspunkten wie hoher Konzentration, mittlerer Größe (zur bevorzugten Prozessierung durch das Immunsystem), guter Löslichkeit (insbesondere bei Pollenallergenen zur besseren Aufnahme durch die Schleimhäute), ausreichender Stabilität gegenüber Proteasen und Hitzedenaturierung (insbesondere bei Nahrungsmittelallergenen zum Verlassen des Gastrointestinaltrakts, wo Immunreaktionen notwendigerweise weitgehend unterdrückt sind) oder Nichtexistenz verwandter Proteine im menschlichen Organismus (macht Immuntoleranz unwahrscheinlicher) spielen vielleicht auch andere Gesichtspunkte wie etwa Glykosylierungen (zusammengefasst in Fötisch und Vieths 2001; van Ree 2002) und andere posttranslationale Modifikationen oder Konformationsänderungen im Rahmen der physiologischen Funktion des jeweiligen Allergens dabei eine Rolle (zusammengefasst in Aalberse 2000). Aus diesem Grund ist eine umfassende biochemische und biophysikalische Charakterisierung der bekannten Allergene notwendig, aber auch aus ganz pragmatischen medizinischen Gründen, etwa

### 1. Einleitung

- zur rekombinanten Herstellung von Allergenen zur Verbesserung der bisher meist auf schwer standardisierbaren und wegen der enthaltenen Enzyme oft schlecht haltbaren Extrakten mit ungewisser Zusammensetzung der verschiedenen Allergene der jeweiligen Tier- oder Pflanzenart beruhenden Diagnostik (Valenta und Kraft 1995), um jedem Patienten eine möglichst spezifische Vermeidung der für ihn relevanten Allergene z. B. durch eine Diät zu ermöglichen, oder
- zur rekombinanten Herstellung von modifizierten Allergenen als Impfstoffe zur Reduzierung anaphylaktischer Nebenwirkungen bei der spezifischen Immuntherapie (Valenta und Kraft 1995; Valenta et al. 1999), bis hin
- zur im Zeitalter von Novel Food stark an Bedeutung gewinnenden Bewertung und Deklaration des Allergierisikos von Nahrungsmitteln (Kimber et al. 1999; Eigenmann 2001), letztendlich mit dem Ziel der Herstellung hypoallergener Nahrungsmittel.

Da IgE-Antikörper in der Regel konformationelle Epitope erkennen, d. h. in der Primärstruktur nicht sequentiell benachbarte, sondern erst durch die Faltung des Proteins im Rahmen der Tertiärstruktur räumlich benachbarte Bereiche auf der Moleküloberfläche des Allergens, erfordert eine detaillierte Epitopanalyse insbesondere die Bestimmung der dreidimensionalen Struktur der Allergene in atomarer Auflösung (zusammengefasst in Aalberse 2000; Rösch 2001; Betzel 2001), wie sie mittels moderner biophysikalischer Methoden möglich ist, wie bereits in meiner Diplomarbeit (Neudecker 2000, Abschnitt 1.1) beschrieben insbesondere mittels Röntgenkristallographie (Cantor und Schimmel 1980, Kapitel 13) oder NMR-Spektroskopie (Wüthrich 1986; Cavanagh et al. 1996). Die Charakterisierung der Tertiärstruktur mehrerer Allergene, genauer gesagt mehrerer Birkenpollenallergene und durch Kreuzreaktionen birkenpollenassoziierter Nahrungsmittelallergene, mit Hilfe meist mehrdimensionaler heteronuklearer NMR-Spektroskopie unterstützt durch bioinformatische Methoden sowie die aus der dreidimensionalen Struktur zu gewinnenden Einblicke in die immunologische und physiologische Funktion dieser Allergene stellen auch den Schwerpunkt dieser Arbeit dar.

### 1.2 Birkenpollenallergene und birkenpollenassoziierte Nahrungsmittelallergene

Zu den häufigsten Allergieerkrankungen in Mitteleuropa gehört die allergische Rhinitis (Heuschnupfen), neben Asthma die typische allergische Reaktion auf Pollenallergene. In der gemäßigten Klimazone der nördlichen Hemispähre (hauptsächlich Mitteleuropa und Teile von Nordamerika) stellen dabei Pollen von Baumarten der Ordnung *Fagales* wie Schwarzerle, Birke, Hasel, Weißbuche und Eiche im Frühling die Hauptquelle für Pollenallergene dar. Speziell aus Pollen der Birke (*Betula verrucosa*) wurden bisher sieben Allergene charakterisiert. Die ersten sechs dieser Birkenpollenallergene bekamen vom Allergen Nomenclature Sub-Committee der International Union of Immunological Societies (IUIS) die offiziellen Bezeichnungen Bet v 1 bis Bet v 4, Bet v 6 und Bet v 7 zugewiesen (King et al. 1994, URL: http://www.allergen.org, Stand: 2. 3. 2003). Für ein weiteres, mit Pektin-Esterasen verwandtes Birkenpollenallergen wurde vor kurzem die Bezeichnung Bet v 8 vorgeschlagen (Mahler et al. 2001).

### 1.2.1 Bet v 1 und verwandte Allergene

### 1.2.1.1 Isoformen von Bet v 1

Über 90 % der speziell auf Birkenpollen allergischen Patienten besitzen IgE-Antikörper gegen das Hauptallergen Bet v 1 (Breiteneder et al. 1989), das wegen seiner hohen Konzentration und guten Wasserlöslichkeit den Hauptproteinbestandteil von wässrigen Birkenpollenextrakten darstellt (Swoboda et al. 1994). Von Bet v 1 existiert eine ganze Reihe von Isoformen (Breiteneder et al. 1989; Swoboda et al. 1995a; Swoboda et al. 1995b; Hoffmann-Sommergruber et al. 1997; Larsen et al., unveröffentlicht), von denen bisher (Stand: 2. 3. 2003) 37 vom Allergen Nomenclature Sub-Committee der IUIS offiziell als Isoallergene und Varianten beschrieben sind (King et al. 1994, URL: http://www.allergen.org), insbesondere die für diese Arbeit bedeutsamen Isoformen Bet v 1.0101 oder Bet v 1a (Breiteneder et al. 1989), die mit mindestens 50 % des Anteils an Bet v 1 die häufigste Isoform in Birkenpollen darstellt (Swoboda et al. 1995a), Bet v 1.2801 (Larsen et al., unveröffentlicht; Gajhede et al. 1996), die sich von Bet v 1.0101 nur durch ein Leucin anstelle eines Phenylalanins an Sequenzposition 62 unterscheidet, und Bet v 1.1001 oder Bet v 11 (Swoboda et al. 1995a), die sich von Bet v 1.0101 an insgesamt neun Sequenzpositionen unterscheidet. Die dreidimensionale Struktur konnte von Bet v 1.2801 durch Röntgenkristallographie und NMR-Spektroskopie (Gajhede et al. 1996, PDB-Kennungen 1BV1 bzw. 1BTV), von Bet v 1.0101 M139L durch NMR-Spektroskopie (Faber 1996; Faber et al. 1996; Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000, PDB-Kennung 1B6F), von Bet v 1.2801 N28T,K32Q,E45S,P108G durch Röntgenkristallographie (Holm et al. 2000, PDB-Kennung 1QMR) und von Bet v 1.1001 durch Röntgenkristallographie (Markovic-Housley et al. 2003, PDB-Kennung 1FM4) in atomarer Auflösung bestimmt werden.

### 1.2.1.2 Kreuzreaktionen auf mit Bet v 1 verwandte Nahrungsmittelallergene

Mit Bet v 1 eng verwandte Allergene vermutlich ähnlicher physiologischer Funktion sind nicht nur aus Pollen anderer Baumarten der Ordnung Fagales wie Aln g 1 aus Pollen der Schwarzerle (Alnus glutinosa; Breiteneder et al. 1992), mehrere Isoformen von Car b 1 aus Pollen der Weißbuche (Carpinus betulus; Larsen et al. 1992), mehrere Isoformen von Cor a 1 aus Pollen der Hasel (Corylus avellana; Breiteneder et al. 1993), Que a 1 aus Pollen der Eiche (Quercus alba; Ipsen und Hansen 1991) und Cas s 1 aus Pollen der Kastanie (Castanea sativa; Kos et al. 1993) bekannt, sondern auch aus vielen Nuss-, Obst- und Gemüsesorten wie Cor a 1.0401 aus Haselnüssen (Corylus avellana; Lüttkopf et al. 2001a), Pru av 1 (früher Pru a 1, zur Unterscheidung vom allergologisch bisher wenig untersuchten Pru ar 1 aus Aprikosen (Prunus armeniaca; Mbeguie-A-Mbeguie et al. 1997) in Pru av 1 umbenannt) aus Kirschen (Prunus avium; Scheurer et al. 1997), Pyr c 1 aus Birnen (Pyrus communis; Karamloo et al. 2001a), Mal d 1 aus Äpfeln (Malus domestica; Vanek-Krebitz et al. 1995) mit mehreren vom Allergen Nomenclature Sub-Committee der IUIS bisher (Stand: 2. 3. 2003) nicht offiziell als Isoallergene und Varianten beschriebenen (King et al. 1994, URL: http: //www.allergen.org) Isoformen und Varianten (Atkinson et al. 1996; Schöning et al. 1996; Son et al. 1999; Holm et al. 2001; Ziadi et al. 2001), Gly m 4 oder SAM22 aus Sojabohnen (Glycine max; Crowell et al. 1992; Kleine-Tebbe et al. 2002), die Isoformen Api g 1.0101 (Breiteneder et al. 1995) und Api g 1.0201 (Hoffmann-Sommergruber et al. 2000) aus Sellerie (Apium graveolens) und die Isoformen Dau c 1.01 mit mehreren Varianten (Lin et al. 1996; Yamamoto et al. 1997; Hoffmann-Sommergruber et al. 1999) und Dau c 1.0201 (Vieths et al. 2002b) aus Karotten (Daucus carota). Aus der NH2-terminalen Ansequenzierung mehrerer dieser Allergene (Breiteneder et al. 1989; Ipsen und Hansen 1991; Schöning et al. 1995; Hoffmann-Sommergruber et al. 1999; Lüttkopf et al. 2001a) und aus massenspektroskopischen Untersuchungen (Swoboda et al. 1995a) ist bekannt, dass als einzige posttranslationale Modifikation das NH<sub>2</sub>-terminale Methionin abgespalten wird. Die daraus resultierenden aus 153 bis 160 Aminosäuren aufgebauten Nahrungsmittelallergene mit relativen Molekülmassen um 17 kDa und leicht sauren berechneten isoelektrischen Punkten von meist zwischen 4 und 6 zeigen mit mindestens 38 % allesamt eine hohe Sequenzidentität mit Bet v 1.0101 (Abb. 1.1). Dies führt dazu, dass Birkenpollenallergiker nicht nur häufig auf Pollen anderer Baumarten der Ordnung Fagales kreuzreagieren, sondern zwischen 50 % und 93 % von ihnen auch nach dem Verzehr von Haselnüssen, Kirschen, Birnen, Äpfeln, Sojabohnen, Sellerie oder Karotten allergische Symptome vom Juckreiz im Mund- und Rachenraum (OAS) bis hin zum anaphylaktischen Schock zeigen (zusammengefasst in Vieths 1997; Vieths et al. 2002a).

Bet_v_1.0101 Bet_v_1.2801 Bet_v_1.1001 Cor_a_1.0401 Pyr_c_1 Ma_d_1 Gly_m_4 Api_g_1.0101 Api_g_1.0201 Dau_c_1.0105 Dau_c_1.0201	1 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG	10 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	20 A A R L F K A F A A R L F K A F A A R L F K A F P P R L F K A F P P R L F K A F P S R L F K A F P S R L F K A F A E K M Y Q G F A E K M Y Q G F A E K M Y Q G F		0     K     V     A     P     Q     A     I       0     K     V     A     P     Q     A     I       0     K     V     A     P     Q     A     I       0     K     V     A     P     Q     A     I       0     K     V     A     P     Q     A     I       0     K     V     A     P     Q     A     I       0     K     I     A     L     D     G     I       0     K     I     A     L     D     G     I       0     K     I     I     P     K     I     I			60 60 60 60 60 60 60 60 60 60
Bet_v_1.0101 Bet_v_1.2801 Bet_v_1.1001 Cor_a_1.0401 Pru_av_1 Pyr_c_1 Mal_d_1 Gly_m_4 Apl_g_1.0101 Apl_g_1.0201 Dau_c_1.0105 Dau_c_1.0201		70     Ε     V       K D R V D E V     K     K       K D R V D E V     K     K       K D R V D S I     K     K       K H R V D S I     S I     S I       K H R V D S I     K     K H R V D S I       K H R V D S I     K Q R V D V I     K       K V R V D V I     K Q R V D V I     B	80 D H T N F K Y N D H T N F K Y N D H T N F K Y N D H A N F K Y C D K E N Y S Y A D E A S Y S Y A D E A S Y S Y S N K E A L T F D D K A G L A Y T D K K A G L G Y T D K A G L G Y T	$\begin{array}{c} U_{z} \\ U_{z} \\ V_{z} \\$	0 9 9 9 9 9 9 1 9 1 9 1 9 1 9 1 9 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	100 SNEIKIV/ SNEIKIV/ SNEIKIV/ SYETKUV/ SYETKUV/ SYETKUV/ SYETKUV/ ENHVVLVF VNEFVVVF Δ QFVVVF β <sub>0</sub>	PSchleife 110 A T P D G G A T P D G G A T P D G G A P H G G G A S P S G G A S G S G C G S G C G S G T A D G G P T A D G G P T A D G G P T A D G G	μ <sub>3</sub> S   L K   S N K K         S   L K   S N K K         S   L K   S N K K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   L K   S N K         S   C K   S N K         S   C K   S N K         S   C K   N N T         C   V K N T         β <sub>7</sub>
Bet v 1.0101 Bet v 1.2801 Bet v 1.1001 Pru_av 1 Pyr_c 1 Ma_d 1 Gly m_4 Api_g 1.0101 Api_g 1.0201 Dau_c 1.0105 Dau_c 1.0201	120 Y H H H H H H H H H H H H H H H H H H H		140 HG E E M G G E A S S K K K E E M G G E A S S K K K E E E K A A H K A S G K K K A A D A K A G G K K K A A D A K A G G K K K A A D A K A G G K K K A A D A K F E A T A E K F E A T A E K F E A T A E			159 Y N Y N Y C Y N Y N Y N N . L A		

Abb. 1.1 Strukturbasiertes Sequenzalignment mit Bet v 1.0101 von Bet v 1.2801 (99,4 % Sequenzidentität mit Bet v 1.0101), Bet v 1.1001 (94,3 %), Cor a 1.0401 (67,3 %), Pru av 1 (59,1 %), Pyr c 1 (57,0 %), Mal d 1 (55,7 %), Gly m 4 (47,1 %), Api g 1.0101 (41,2 %), Api g 1.0201 (38,6 %), Dau c 1.0105 (37,9 %) und Dau c 1.0201 (39,2 %). Die über den Sequenzen angegebenen Sequenz-positionen beziehen sich auf Bet v 1.0101. Lücken im Alignment sind durch Punkte markiert. Bei mindestens 7 der 12 Allergene konservierte Reste sind grau hinterlegt, bei allen 12 Allergenen konservierte Reste schwarz. Die Sekundärstrukturelemente sowie die P-Schleife von Bet v 1 (Faber 1996; Faber et al. 1996; Gajhede et al. 1996; Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000; Markovic-Housley et al. 2003) und Pru av 1 (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a) sind unter dem Alignment dargestellt. Das Alignment wurde unter Berücksichtigung von mit SWISS-MODEL (Guex und Peitsch 1997) erstellten Homologiemodellen manuell erstellt und mit ALSCRIPT (Barton 1993) formatiert.

Die mit Bet v 1 verwandten Nahrungsmittelallergene sind im Gegensatz zu vielen klassischen Nahrungsmittelallergenen nicht außergewöhnlich hitzestabil, Pru av 1 beispielsweise zeigte in CD-spektroskopischen Untersuchungen einen thermischen Übergang bei einer Mittelpunktstemperatur von  $T_m \approx 339 K$  (Nerkamp 1998, Abschnitt 4.5). Da dieser thermische Übergang reversibel ist, verlieren die mit Bet v 1 verwandten Nahrungsmittelallergene ihre IgE-Reaktivität durch zwischenzeitliches Erhitzen als reine Proben im Reagenzglas in der Regel nicht, wohl aber als Bestandteil der jeweiligen Frucht wegen der zusätzlichen Wechselwirkung mit Enzymen und anderen Bestandteilen. Trotzdem reichte selbst der geringe nicht zerstörte Anteil an den verschiedenen Isoformen von Api g 1 in gekochtem Sellerie bzw. von Cor a 1 in gerösteten Haselnüssen bei manchen Patienten noch dazu aus, allergische Reaktionen auszulösen (zusammengefasst in Vieths et al. 2002a). Besonders labil ist Mal d 1, das vermutlich durch Produkte von Polyphenoloxidasen in wässrigen Apfelextrakten auch ohne Erhitzen in-

nerhalb kürzester Zeit seine IgE-Reaktivität verliert, was die Herstellung haltbarer Apfelextrakte zu diagnostischen und therapeutischen Zwecken (Abschnitt 1.1) deutlich erschwert (zusammengefasst in Vieths 1997; Vieths et al. 2001). Da die Symptome nach dem Verzehr von mit Bet v 1 verwandten Nahrungsmittelallergenen in den meisten Fällen auf den oralen Bereich beschränkt bleiben (OAS) und anaphylaktische Reaktionen relativ selten sind, dürften diese Allergene auch nicht besonders resistent gegen Verdauung sein, was jedoch bisher kaum experimentell untersucht wurde. Das natürliche Isoformengemisch von Api g 1 scheint etwas resistenter gegen Verdauung zu sein als das von Cor a 1, was vielleicht die Ursache für das nach dem Verzehr von Sellerie vergleichsweise häufige Auftreten von anaphylaktischen Reaktionen darstellt (zusammengefasst in Vieths et al. 2002a).

### 1.2.1.3 Kreuzreaktive IgE-Epitope des Hauptallergens der Kirsche Pru av 1 wt

In meiner Diplomarbeit konnte ich die dreidimensionale Struktur des Hauptallergens der Kirsche Pru av 1 wt mit NMR-Spektroskopie in atomarer Auflösung bestimmen (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09), deren mit Hilfe von PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996) identifizierte reguläre Sekundärstrukturelemente in Abb. 1.2 dargestellt sind. Mit Ausnahme der Schleife zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_3$  und  $\beta_4$  von Glu 60 bis Gln 63, für die wegen fehlender Zuordnung der Amidprotonenresonanzen von Ser 62 und Gln 63 nur wenige experimentelle Randbedingungen gefunden werden konnten, ist die Struktur von Pru av 1 wt in Lösung mit mittleren atomaren Standardabweichungen von der mittleren Struktur von 0,60 Å für das Proteinrückgrat und von 0,93 Å für alle schweren Atome sehr gut definiert (Abb. 4.14). Eine Überlagerung des Proteinrückgrats der Struktur von Pru av 1 wt in Lösung (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) mit dem Proteinrückgrat der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 (Gajhede et al. 1996, PDB-Kennung 1BV1) zeigte, dass sowohl die Sekundärals auch die Tertiärstrukturen beider Allergene fast identisch sind (Abb. 4.5). Ein quantitativer Vergleich der mittleren Struktur von Pru av 1 wt in Lösung (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) mit der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 (Gajhede et al. 1996, PDB-Kennung 1BV1) und mit der mittleren Struktur von Bet v 1.0101 M139L in Lösung (Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000, PDB-Kennung 1B6F; bei den Vergleichen mit dieser Struktur sind jeweils nur die Aminosäuren 1 - 154 berücksichtigt, weil der COOH-Terminus experimentell stark unterdefiniert ist) liefert atomare Standardabweichungen des Proteinrückgrats von nur 1,85 Å bzw. 2,23 Å, also etwa genauso viel wie die atomare Standardabweichung des Proteinrückgrats dieser beiden Strukturen von Bet v 1 untereinander von

2,06 Å. Zusammen mit der beträchtlichen Sequenzidentität zwischen Pru av 1 wt und den verschiedenen Isoformen von Bet v 1 (Abb. 1.1) führt die konservierte Konformation des Proteinrückgrats zu einer in Form und Ladungsverteilung sehr ähnlichen Moleküloberfläche, was die Existenz kreuzreaktiver IgE-Epitope höchst wahrscheinlich werden lässt und so die beobachtete IgE-Kreuzreaktivität völlig zwanglos erklärt.



Abb. 1.2 Schematische Darstellung der regulären Sekundärstrukturelemente anhand der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09). Die sieben  $\beta$ -Faltblattstränge bilden ein antiparalleles  $\beta$ -Faltblatt, das zusammen mit den beiden V-förmig angeordneten kurzen Helices  $\alpha_1$  (Reste 15-22) und  $\alpha_2$  (Reste 26-33) um die lange COOH-terminale Helix  $\alpha_3$  (Reste 130-153) gewickelt ist. Dadurch entsteht im Inneren ein Hohlraum. Die gegenseitige Orientierung der  $\beta$ -Faltblattstränge ist gegeben durch die Sequenzpositionen  $2 \rightarrow 11$  ( $\beta_1$ ),  $112 \leftarrow 122$  ( $\beta_7$ ),  $97 \rightarrow 104$  ( $\beta_6$ ),  $80 \leftarrow 85$  ( $\beta_5$ ),  $65 \rightarrow 75$  ( $\beta_4$ ),  $53 \leftarrow 58$  ( $\beta_3$ ) und  $41 \rightarrow 43$  ( $\beta_2$ ). Trotz teilweiser Verdeckung durch den Strang  $\beta_3$  ist der Knick in Strang  $\beta_4$  bei Asp 72 deutlich zu erkennen.

Zu den innerhalb der Familie der mit Bet v 1 verwandten Allergene am höchsten konservierten Sequenzbereichen (Abb. 1.1) gehört die glycinreiche so genannte P-Schleife (siehe Abschnitt 1.2.1.4) zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_2$  und  $\beta_3$  von Ile 44 bis Thr 52, die einen der drei hochkonservierten Bereiche auf der Moleküloberfläche von Bet v 1 darstellt, die als zur Kreuzreaktivität zwischen den Pollen der Baumarten der Ordnung *Fagales* führende IgE-Epitope vorgeschlagen wurden (Gajhede et al. 1996; Spangfort et al. 1997). Bei Bet v 1.2801 wurde dieser Bereich vor kurzem als das Epitop des monoklonalen IgG-Antikörpers BV16 einer Maus identifiziert (Mirza et al. 2000), dessen hohe Fähigkeit zur Inhibition der Bindung von IgE-Antikörpern aus dem Serum allergischer Patienten an Bet v 1.2801 darauf hindeutet, dass die P-Schleife auch eines der IgE-Epitope von Bet v 1 darstellt. Die Einführung von vier Punktmutationen einschließlich der Substitution von Glu 45 durch ein Serin resultierte in der Tat in einer Mutante von Bet v 1.2801 mit einer um ein Mehrfaches reduzierten IgE-Bindungsfähigkeit (Holm et al. 2000, PDB-Kennung 1QMR). In der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 im Komplex mit dem Fab dieses IgG-Antikörpers BV16 befindet sich die negativ geladene Seitenkette von Glu 45 in einer positiv geladenen Bindungstasche des Antikörpers, wo sie zwei Wasserstoffbrücken mit der CDR3 der variablen Domäne der schweren Kette bildet (Spangfort et al. 1999; Mirza et al. 2000, PDB-Kennung 1FSK).

Diese P-Schleife ist bei Pru av 1 wt strukturell konserviert. Zusätzlich zu Glu 45, dessen Seitenkette wie bei Bet v 1 lösungsmittelexponiert ist (Abb. 4.14), sind 14 der verbleibenden 15 Reste, die die Kontaktfläche zwischen Bet v 1.2801 und dem Fab bilden, bei Pru av 1 wt konserviert (Glu 42, Gly 46, Gly 48, Gly 49, Pro 50, Gly 51, Thr 52, Asp 72, Ile 86 und Lys 97) oder konservativ substituiert (Ile 44 durch ein Leucin, Asn 47 durch ein Aspartat, Arg 70 durch ein Lysin und His 76 durch ein Lysin) (Abb. 1.1), was uns dazu veranlasste, diesen Bereich als ein kreuzreaktives IgE-Epitop und Glu 45 damit als vielversprechenden Mutationskandidaten zur Modifikation der IgE-Bindungseigenschaften von Pru av 1 vorzuschlagen (Scheurer et al. 1999; Neudecker et al. 2001a). Diese Hypothese wird durch die signifikant niedrigere Bindung der IgE-Antikörper aus dem Serum mancher Patienten an die Mutanten Pru av 1 G46P und Pru av 1 ΔT52 gestützt (Scheurer et al. 1999).

In Einklang mit der klinischen Erfahrung, dass bei fast allen Patienten die Sensibilisierung auf Pollenallergene stattgefunden hat und die assoziierten Nahrungsmittelallergien lediglich eine Folge der Kreuzreaktivität pollenallergenspezifischer IgE-Antikörper darstellen (zusammengefasst in Vieths 1997; Vieths et al. 2002a), kann Bet v 1.0101 die Bindung der IgE-Antikörper aus einem Pool von Sera von Birkenpollenallergikern mit assoziierten Nahrungsmittelallergien an Cor a 1.0401, Pru av 1 wt, Pyr c 1, Mal d 1 und Api g 1.0101 praktisch vollständig inhibieren (Abb. 1.3). Speziell im Falle der Kirschallergie stellte sich bei einer kürzlich durchgeführten Studie (Scheurer et al. 2001b) heraus, dass von 101 deutschen Patienten 94 IgE-Antikörper gegen das mit Bet v 1 verwandte Hauptallergen Pru av 1 wt und 12 IgE-Antikörper gegen das mit Bet v 2 verwandte Nebenallergen Pru av 4 (Profilin, siehe Abschnitt 1.2.2) trugen, aber nur 3 dieser 96 Patienten gegen das nicht mit einem Birkenpollenallergen verwandte Nebenallergen Pru av 3 (Lipid Transfer Protein, LTP). Die IgE-Antikörper aus dem Serum der 7 mit untersuchten italienischen Patienten hingegen, die wegen des anderen Klimas Birkenpollen kaum ausgesetzt sind, reagierten vor allem mit Pru av 3, so dass es sich bei den relativ seltenen Fällen einer Kirschallergie im Mittelmeerraum in aller Regel um eine echte Nahrungsmittelallergie handeln dürfte, bei den häufigeren Fällen in Mitteleuropa hingegen fast immer um eine pollenassoziierte Nahrungsmittelallergie.



Abb. 1.3 Immunoblot-Inhibition der Bindung der IgE-Antikörper aus einem Pool von Sera von Birkenpollenallergikern mit assoziierten Nahrungsmittelallergien an Bet v 1.0101 (Spalte 1), Api g 1.0101 (Spalte 2), Mal d 1 (Spalte 3), Pru av 1 wt (Spalte 4), Pyr c 1 (Spalte 5) und Cor a 1.0401 (Spalte 6) durch Präinkubation mit Bet v 1.0101 (links, Bahnen 3) sowie an Pru av 1 wt durch Präinkubation mit Pru av 1 wt (rechts, Bahn 1) und Api g 1.0101 (rechts, Bahn 2) (Neudecker et al. 2001a). Eine Probe ohne Inhibitor (links, Bahnen 2; rechts, Bahn 3) und das Serum einer nicht allergischen Person (links, Bahnen 1; rechts, Bahn 4) wurden als Positiv- bzw. Negativkontrolle verwendet.

Im Gegensatz zu Bet v 1.0101 kann Api g 1.0101 die Bindung der IgE-Antikörper aus einem Pool von Sera von Birkenpollenallergikern mit assoziierten Nahrungsmittelallergien an Pru av 1 wt nur unvollständig inhibieren (Abb. 1.3), d. h. Pru av 1 wt muss mindestens ein IgE-Epitop besitzen, dass von Api g 1.0101 nicht präsentiert wird. Zudem wurden in einer kürzlich in der Schweiz, wo Allergien gegen Sellerie wegen der dortigen Ernährungsgewohnheiten besonders häufig aufzutreten scheinen (zusammengefasst in Vieths 1997; Vieths et al. 2002a), durchgeführten Studie (Ballmer-Weber et al. 2001) beobachtet, dass sich die Bindung der IgE-Antikörper aus dem Serum mancher sowohl gegen Birkenpollen als auch gegen Karotten allergischer Patienten an das natürliche Isoformengemisch von Dau c 1 zwar durch das mit Dau c 1.0105 eine besonders hohe Sequenzidentität zeigende Api g 1.0101 (Abb. 1.1) vollständig inhibieren ließ, aber weder durch Bet v 1.0101 noch durch Birkenpollenextrakt. Bei diesen Patienten muss also entweder die ursprüngliche oder eine zusätzliche spätere Sensibilisierung gegen mindestens ein IgE-Epitop eines von Bet v 1 verschiedenen Allergens (beispielsweise Dau c 1.0105 oder Api g 1.0101) stattgefunden haben. In einer etwas älteren

Studie waren bereits im Serum von 4 spanischen Patienten, die wegen des anderen Klimas Birkenpollen kaum ausgesetzt sind, IgE-Antikörper gegen das natürliche Isoformengemisch von Dau c 1 gefunden worden, die zwar mit dem natürlichen Isoformengemisch von Api g 1 kreuzreagierten, aber nicht mit Birkenpollenextrakt (Moneo et al. 1999). Interessanterweise zeigt das Sequenzalignment (Abb. 1.1), dass gerade bei Api g 1.0101 und Dau c 1.0105 die P-Schleife nicht konserviert ist; sie ist nicht nur um einen Rest verkürzt, sondern zusätzlich ist das negativ geladene Glu 45 noch durch ein positiv geladenes Lysin ersetzt. Bei den vor kurzem entdeckten Isoformen Apig 1.0201 (Hoffmann-Sommergruber et al. 2000) und Dau c 1.0201 (Vieths et al. 2002b) hingegen ist die P-Schleife konserviert (Abb. 1.1), und die Bindung der IgE-Antikörper aus einem Pool von Sera von Sellerieallergikern an Api g 1.0201 ließ sich durch Bet v 1.0101 teilweise und durch Birkenpollenextrakt vollständig inhibieren (Hoffmann-Sommergruber et al. 2000). Der Vorschlag, dass der Bereich der P-Schleife um Glu 45 eines der kreuzreaktiven IgE-Epitope darstellt, passt hervorragend zu diesen experimentellen Befunden und würde vor allem eine einfache Erklärung dafür liefern, warum die Präinkubation mit Api g 1.0101 die Bindung der IgE-Antikörper an Pru av 1 wt nicht vollständig inhibieren kann (Abb. 1.3). Ersatzweise oder zusätzlich würde auch eine Beteiligung des COOH-Terminus an einem der kreuzreaktiven IgE-Epitope eine ebenso einfache Erklärung liefern, da sich Api g 1.0101, Dau c 1.0105 und Dau c 1.0201 neben der modifizierten P-Schleife auch durch einen um fünf Aminosäuren verkürzten COOH-Terminus von den anderen mit Bet v 1 verwandten Allergenen unterscheiden (Abb. 1.1).

Die notwendige Fähigkeit zur Quervernetzung zweier auf der Oberfläche einer Mastzelle gebundener IgE-Antikörper erfordert die Existenz mindestens zweier nicht überlappender IgE-Epitope auf der Moleküloberfläche jedes klinisch relevanten Allergens. Zusätzlich zum Bereich der P-Schleife um Glu 45 wurde basierend auf Mutationsstudien an der wenig IgE-reaktiven Isoform Bet v 1.0401 (Ferreira et al. 1998), an Mal d 1 (Son et al. 1999; Ferreira et al. 2000) und an Api g 1.0101 (Ferreira et al. 2000) ein Bereich auf den benachbarten Faltblattsträngen  $\beta_1$  und  $\beta_7$  um Thr 10 bzw. Ser 112 als IgE-Epitop von Pru av 1 wt vorhergesagt (Scheurer et al. 1999). Die Punktmutanten Pru av 1 T10P und I113V zeigten jedoch eine ähnlich hohe IgE-Reaktivität wie Pru av 1 wt, und die bei Pru av 1 S112P und S112C beobachtete drastisch reduzierte IgE-Reaktivität war vermutlich die Folge einer Zerstörung der Tertiärstruktur von Pru av 1 wt durch diese Punktmutationen (Scheurer et al. 1999) und erlaubte daher keine Rückschlüsse auf die Lage der IgE-Epitope von Pru av 1 wt.

### 1.2.1.4 Die PR-10-Familie von mit Krankheitsbefall zusammenhängenden Proteinen

Bereits bei der Klonierung von Bet v 1.0101 (Breiteneder et al. 1989) fiel auf, dass die mit Bet v 1 verwandten Allergene eine Sequenzidentität zwischen 25 % und 55 % zur PR-10-Familie von mit Krankheitsbefall zusammenhängenden, wegen fehlender Signalpeptidsequenzen vermutlich zytosolischen Pflanzenproteinen zeigen (zusammengefasst in van Loon und van Strien 1999; Breiteneder und Ebner 2000; Hoffmann-Sommergruber 2000; Ebner et al. 2001; Ebner und Breiteneder 2002), obwohl im Fall von PR-p16.5a, PR-p16.5b und PR-p16.5c aus der weißen Lupine (Lupinus albus) elektronenmikroskopisch eine Anreicherung dieser PR-10-Proteine in der Zellwand festgestellt wurde (Pinto und Ricardo 1995). Bet v 1 selbst hingegen befindet sich nach den Ergebnissen elektronenmikroskopischer Untersuchungen zunächst im Zytosol, den Vesikeln und Zisternen des Endoplasmatischen Reticulums sowie dem vegetativen Zellkern der Pollen, wird aber bei Hydrierung der Pollen, wie sie etwa im Rahmen der Pollenkeimung auf der Narbe, aber natürlich auch im Rahmen einer allergischen Reaktion auf den Nasenschleimhäuten eines Pollenallergikers stattfindet, innerhalb von Minuten praktisch vollständig aus dem Zytosol durch die Zellwände ausgewaschen (Vrtala et al. 1993; Grote et al. 1993; Grote et al. 1998; Grote 1999; Grote et al. 1999), was die hohe Allergenizität eines intrazellulären Proteins wie Bet v 1 erklärt. Auch das Platzen der Pollenschläuche bei einer durch Regenwasser hervorgerufenen abgebrochenen Pollenkeimung setzt Betv1, Aln g 1 bzw. Cor a 1 frei, das als Aerosol vermutlich genauso allergische Rhinitis auslösen kann wie ganze Pollen, aber wegen seiner geringeren Größe wesentlich einfacher bis in die Bronchien vordringen und damit das Auftreten von Asthma wahrscheinlicher machen dürfte (Grote et al. 2003).

Die Expression vieler PR-10-Proteine wird durch Hochregulierung der Transkription der für sie codierenden Gene im Rahmen der Stressantwort der jeweiligen Pflanze auf verschiedenste Stimuli gesteigert, beispielsweise von DRRG49a oder pI49, DRRG49b oder pI176 und DRRG49c oder RH2 aus der Erbse (*Pisum satvium*) bei Bakterienbefall, Pilzbefall oder Inkubation mit aus Pilzen gewonnenen Auslöserstoffen (Fristensky et al. 1988; Chiang und Hadwiger 1990; Mylona et al. 1994), von pcPR1-1, pcPR1-3 und pcPR2 aus der Petersilie (*Petroselinum cripsum*) bei Verwundung, Begasung mit Ozon, Pilzbefall oder Inkubation mit aus Pilzen gewonnenen Auslöserstoffen (Somssich et al. 1986; Somssich et al. 1988; Somssich et al. 1989; Schmelzer et al. 1989; van de Löcht et al. 1990; Eckey-Kaltenbach et al. 1994), von PR-10a oder pSTH-2 und pSTH-21 aus der Kartoffel (*Solanum tuberosum*) bei Verwundung, Pilzbefall oder Inkubation mit aus Pilzen gewonnenen Auslöserstoffen (Matton und Brisson 1989; Constabel und Brisson 1992; Constabel und Brisson 1995), von PR-10a

oder pvPR1, PR-10b oder pvPR2 und PR-10c aus der Bohne (Phaseolus vulgaris) bei Dunkelheit, Virusbefall oder Inkubation mit aus Pilzen gewonnenen sowie mit chemischen Auslöserstoffen (Walter et al. 1990, Awade et al. 1991; Walter et al. 1996), von Gly m 4 oder SAM22 und H4 aus der Sojabohne (Glycine max) bei Entzug der pflanzlichen Wachstumshormonfamilien Cytokinin oder Auxin, Verwundung oder Inkubation mit aus Pilzen gewonnenen sowie mit chemischen Auslöserstoffen (Crowell und Amasino 1991; Crowell et al. 1992), von AoPR1 aus dem Spargel (Asparagus officinalis) bei Verwundung, Virusbefall, Bakterienbefall, Pilzbefall oder Inkubation mit chemischen Auslöserstoffen (Warner et al. 1992; Warner et al. 1993; Warner et al. 1994; Bi et al. 1995; Mur et al. 1996), von PR-p16.5a, PR-p16.5b und PR-p16.5c aus der weißen Lupine (Lupinus albus) bei Bestrahlung mit UV-Licht, Virusbefall, Pilzbefall oder Inkubation mit chemischen Auslöserstoffen (Pinto und Ricardo 1995), von PBZ1 oder PR-10a und PR-10b aus dem Reis (Oryza sativa) bei Pilzbefall oder Inkubation mit dem Pflanzenschutzmittel Probenazol sowie mit chemischen Auslöserstoffen (Midoh und Iwata 1996; McGee et al. 2001), von TsPR-10a aus dem Bodenblütigen Klee (Trifolium subterraneum) bei Wintergetreidemilbenbefall oder Inkubation mit dem chemischen Auslöserstoff Ethephon (Broderick et al. 1997), von PR-10 aus der Hirse (Sorghum bicolor) bei Pilzbefall (Lo et al. 1999), von TSI-1 aus der Tomate (Lycopersicon esculentum) bei Pilzbefall oder Inkubation mit chemischen Auslöserstoffen (Vidya et al. 1999) und von LIPR10.1A und LIPR10.1B aus der gelben Lupine (Lupinus luteus) bei Bakterienbefall (Sikorski et al. 1999). Eine ähnliche, oft gewebespezifische Hochregulierung der Transkription der für viele dieser und noch eine Reihe weiterer PR-10-Proteine codierenden Gene wurde zudem im Rahmen natürlicher, meist durch pflanzliche Hormone wie Abszisinsäure, Methyljasmonat, Cytokinin und/oder Auxin regulierter Entwicklungsprozesse beobachtet, beispielsweise von PR-10a oder pvPR1, PR-10b oder pvPR2 und PR-10c aus der Bohne (Phaseolus vulgaris) bei Alterung (Walter et al. 1990, Awade et al. 1991; Walter et al. 1996), von ABR17 und ABR18 aus der Erbse (Pisum sativum) bei der Trocknung des Embryos oder Inkubation mit Abszisinsäure (Barrat und Clark 1991; Iturriaga et al. 1994), von Gly m 4 oder SAM22 und H4 aus der Sojabohne (Glycine max) bei Alterung (Crowell und Amasino 1991; Crowell et al. 1992), von AoPR1 aus dem Spargel (Asparagus officinalis) bei der Entwicklung der Pollen oder Alterung (Warner et al. 1993; Warner et al. 1994), bei DRRG49c oder RH2 aus der Erbse (Pisum sativum) bei der Entwicklung des Embryos sowie der Wurzeln (Mylona et al. 1994), bei PR-10a oder pSTH-2 aus der Kartoffel (Solanum tuberosum) bei der Entwicklung der Blüte (Constabel und Brisson 1995), bei PR-10a bis PR-10g aus der Lilie (Lilium longiflorum) bei der Entwicklung der Pollenstaubbeutel oder Inkubation mit Abszisinsäure oder

Methyljasmonat (Huang et al. 1997; Wang et al. 1999), von *Ts*PR-10a aus dem Bodenblütigen Klee (*Trifolium subterraneum*) bei der Entwicklung der Jungpflanze (Broderick et al. 1997), von LIPR10.1A und LIPR10.1B aus der gelben Lupine (*Lupinus luteus*) bei Alterung (Sikorski et al. 1999), von FsPR1 aus der Rotbuche (*Fagus sylvatica*) beim Aufwachen aus der Samenruhe (Calvo et al. 1999) und von LaPR-10 aus der weißen Lupine (*Lupinus albus*) bei der Entwicklung der Wurzeln (Bantignies et al. 2000). Soweit histochemische Untersuchungen durchgeführt wurden, zeigten diese in der Regel eine bevorzugte Expression der PR-10-Proteine im Bereich des Gefäßsystems (Warner et al. 1993; Warner et al. 1994; Constabel und Brisson 1995; Pinto und Ricardo 1995; Walter et al. 1996; Ziadi et al. 2001), außer bei LIPR10.1A und LIPR10.1B aus der gelben Lupine (*Lupinus luteus*), die im Bereich des Gefäßsystems der Wurzeln und Wurzelknöllchen überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten (Sikorski et al. 1999).



Abb. 1.4 Strukturbasiertes Sequenzalignment mit Bet v 1.0101 von Bet v 1.2801 (99,4 % Sequenzidentität mit Bet v 1.0101), Bet v 1.1001 (94,3 %), Pru av 1 (59,1 %), Gly m 4 (47,1 %), LIPR10.1A (45,8 %) und LIPR10.1B (45,2 %). Die über den Sequenzen angegebenen Sequenzpositionen beziehen sich auf Bet v 1.0101. Lücken im Alignment sind durch Punkte markiert. Bei mindestens 4 der 7 Proteine konservierte Reste sind grau hinterlegt, bei allen 7 Proteinen konservierte Reste schwarz. Die Sekundärstrukturelemente sowie die P-Schleife von Bet v 1 (Faber 1996; Faber et al. 1996; Gajhede et al. 1996; Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000; Markovic-Housley et al. 2003) und Pru av 1 (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a) sind unter dem Alignment dargestellt. Das Alignment der 5 Allergene wurde aus Abb. 1.1 übernommen, mit ClustalX 1.8 (Thompson et al. 1997) um LIPR10.1A und LIPR10.1B erweitert und mit ALSCRIPT (Barton 1993) formatiert.

Vor kurzem konnte die dreidimensionale Struktur von LIPR10.1A und LIPR10.1B durch Röntgenkristallographie in atomarer Auflösung bestimmt werden (Biesiadka et al. 1999; Biesiadka et al. 2002, PDB-Kennungen 1ICX bzw. 1IFV). Ein Vergleich der Sequenzen dieser beiden PR-10-Proteine mit den bisher strukturell untersuchten Allergenen Bet v 1.0101, Bet v 1.2801, Bet v 1.1001, Pru av 1 wt und Gly m 4 ist in Abb. 1.4 dargestellt, ein Vergleich der Sekundär- und Tertiärstrukturen erfolgt in Abschnitt 4.6.4. Die Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von SPE16 aus Samen der Yambohne (*Pachyr(r)hizus erosus*) durch Röntgenkristallographie in atomarer Auflösung ist im Gange (Wu et al. 2002), allerdings waren zum Zeitpunkt des Schreibens dieser Arbeit weder die Sequenz noch die Atomkoordinaten von SPE16 in den entsprechenden Datenbanken hinterlegt.

Für die bei fast allen untersuchten Pflanzen in mehreren Isoformen vorkommenden PR-10-Proteine codieren jeweils ganze Genfamilien bestehend aus manchmal sogar 20 oder mehr einzelnen Genen (Somssich et al. 1988; Chiang und Hadwiger 1990; Mylona et al. 1994; Walter et al. 1990; Walter et al. 1996; Matton und Brisson 1989; Crowell et al. 1992; Warner et al. 1993; Iturriaga et al. 1994; Swoboda et al. 1994; Swoboda et al. 1995a; Swoboda et al. 1995b; Atkinson et al. 1996; Midoh und Iwata 1996; Hoffmann-Sommergruber et al. 1997; Broderick et al. 1997; Lo et al. 1999; Wang et al. 1999; Vidya et al. 1999; McGee et al. 2001; Ziadi et al. 2001), für die die Bezeichnung Ypr10 vorgeschlagen wurde (van Loon et al. 1994). Viele dieser Gene enthalten ein einzelnes Intron, dessen Position im für den zu Gly 61 von Bet v 1.0101 homologen Rest codierenden Codon hochkonserviert ist (Somssich et al. 1988; Chiang und Hadwiger 1990; van de Löcht et al. 1990; Warner et al. 1993; Walter et al. 1996; Hoffmann-Sommergruber et al. 1997; Broderick et al. 1997; Pühringer et al. 2000; McGee et al. 2001; Ziadi et al. 2001). Die erhöhte Flexibilität der Schleife zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_3$  und  $\beta_4$  von Glu 60 bis Pro 63 bei Bet v 1.2801 bzw. Gln 63 bei Pru av 1 wt (Abschnitte 1.2.1.3 und 4.1) lässt vermuten, dass dieser Bereich besonders tolerant gegenüber Mutationen der Aminosäuresequenz und deshalb gut geeignet für die Aufnahme eines Introns sein könnte.

Während die meisten Isoformen von Bet v 1 in Birkenpollen und die in Abschnitt 1.2.1.2 vorgestellten verwandten Nahrungsmittelallergene in der jeweiligen Frucht offensichtlich konstitutiv exprimiert werden, wird die Transkription der für andere Isoformen von Bet v 1 codierenden Gene in anderen Gewebearten bei Bakterienbefall und Pilzbefall hochreguliert (Swoboda et al. 1994; Swoboda et al. 1995b), ebenso wie die Transkription der für andere Isoformen von Mal d 1 codierenden *Ypr10*-Gene in anderen Gewebearten bei Virusbefall, Inkubation mit aus Pilzen gewonnenen sowie chemischen Auslöserstoffen oder Alterung (Atkinson et al. 1996; Pühringer et al. 2000; Ziadi et al. 2001). Ein Zusammenhang der Expression von Mal d 1 mit einer erhöhten Widerstandsfähigkeit gegen äußere Stressfaktoren könnte zudem die bei einer Untersuchung verschiedener Apfelsorten festgestellte positive Korrelation zwischen dem Gehalt an Mal d 1 und der wirtschaftlichen Bedeutung erklären (zusammengefasst in Vieths 1997). Der Anteil der mit Krankheitsbefall zusammenhängenden Proteine der verschiedenen Klassen (zusammengefasst in van Loon und van Strien 1999) an

den bekannten pflanzlichen Allergenen scheint ganz generell außergewöhnlich hoch zu sein (zusammengefasst in Breiteneder und Ebner 2000; Hoffmann-Sommergruber 2000; Ebner et al. 2001; Ebner und Breiteneder 2002), vermutlich sind diese Proteine aufgrund ihrer geringen Größe, hohen Wasserlöslichkeit und überdurchschnittlichen Stabilität besonders gut dazu geeignet, Allergien auszulösen (Abschnitt 1.1.3; Hoffmann-Sommergruber 2000; Ebner et al. 2001; Vieths et al. 2002a), zumal die grundlegend andere Organisation des menschlichen Immunsystems im Vergleich zur Krankheitsabwehr bei Pflanzen die Existenz verwandter Proteine im menschlichen Organismus und damit die negative Selektion von T- und B-Lymphozyten mit entsprechender Spezifität (Janeway et al. 1999, Abschnitte 6-9 und 7-15) relativ unwahrscheinlich macht. Aus diesem Grund wird in der Literatur manchmal darauf hingewiesen, bei der Züchtung besonders widerstandsfähiger Nutzpflanzen und dem Einsatz von Pflanzenschutzmitteln die Bewertung des Allergierisikos nicht außer Acht zu lassen (Schöning et al. 1996; Hoffmann-Sommergruber 2000; Ziadi et al. 2001; Vieths et al. 2002a; Ebner und Breiteneder 2002). Manche Autoren vermuten in einer durch zunehmende Umweltverschmutzung verursachten Erhöhung der Expression von mit Krankheitsbefall zusammenhängenden Pflanzenproteinen sogar eine der Ursachen für die in Abschnitt 1.1.1 angesprochene extreme Zunahme der Allergieerkrankungen in den letzten Jahren (Swoboda et al. 1995b; Vanek-Krebitz et al. 1995), was durch die im Vergleich zur Bundesrepublik trotz stärkerer Luftverschmutzung deutlich niedrigere Häufigkeit von Allergieerkrankungen in der DDR während der deutschen Teilung, die seit der Wiedervereinigung ansteigt (zusammengefasst in Strannegård und Strannegård 2001; Kay 2001a; Wills-Karp et al. 2001), jedoch in Frage gestellt wird, zumal ja gerade die in aller Regel für die ursprüngliche Sensibilisierung verantwortlichen mit Bet v 1 verwandten Pollenallergene (Abschnitte 1.2.1.2 und 1.2.1.3) konstitutiv exprimiert werden.

Trotz der Vielzahl publizierter pflanzenbiochemischer Untersuchungen an den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen ist ihre genaue physiologische Funktion nach wie vor unklar. Die weite Verbreitung der PR-10-Proteine im Pflanzenreich, die bei Pflanzen sowohl der Klasse *Monocotyledonae* als auch der Klasse *Eudicotyledonae* gefunden wurden (siehe oben), lässt eine universelle physiologische Funktion von sehr grundsätzlicher Bedeutung vermuten. Die Existenz vieler verschiedener für unterschiedliche Isoformen codierender Gene selbst innerhalb einer Pflanzenart könnte lediglich die gewebe- und stimulusspezifische Regulation der Expression erleichtern, es ist allerdings auch denkbar, dass diese unterschiedlichen.

Die Beobachtung einer Ribonuklease-Aktivität der beiden PR-10-Proteine PgRNS1 und PgRNS2 aus dem Ginseng (Panax ginseng; Moiseyev et al. 1994; Moiseyev et al. 1997) führte zu der Vermutung, die physiologische Funktion aller PR-10-Proteine und der mit Bet v 1 verwandten Allergene könnte auf einer RNase-Aktivität beruhen. So wurde beispielsweise spekuliert, eine RNase-Aktivität von Bet v 1 und den verwandten Pollenallergenen könnte wie die der nicht verwandten basischen extrazellulären S-Glykoproteine aus dem Stempel der persischen Tabakpflanze (Nicotiana alata; McClure et al. 1989; McClure et al. 1990) und der Petunie (Petunia inflata; Huang et al. 1994) für die Blockade des Wachstums der Pollenschläuche bei Selbstbestäubung notwendig sein (Swoboda et al. 1996; Moiseyev et al. 1997). Zwar zeigte die Kristallstruktur des S<sub>F11</sub>-Glykoproteins aus dem Stempel der persischen Tabakpflanze (Nicotiana alata; Ida et al. 2001, PDB-Kennung 1IOO) eine für RNasen des Typs T<sub>2</sub> typische Tertiärstruktur mit zwei für die Katalyse notwendigen hochkonservierten Histidin-Resten, die genaue Rolle ihrer RNase-Aktivität bei der Unterscheidung zwischen eigenem und fremdem Pollen wird jedoch noch kontrovers diskutiert (zusammengefasst in Wang et al. 2003; Cruz-Garcia et al. 2003). Außerdem wurde vorgeschlagen, eine RNase-Aktivität der PR-10-Proteine könnte Krankheitserreger schädigen, das natürliche Isoformengemisch von Bet v 1 aus Pollen zeigte im Experiment jedoch keinerlei direkte Wirkung gegen Bakterien oder Pilze (Swoboda et al. 1994), wobei bei einer vermutlich zytosolischen potentiellen RNase eine eventuelle Wirkung gegen Viren (Swoboda et al. 1996; van Loon und van Strien 1999) oder gegen eigene infizierte Zellen im Rahmen der hypersensitiven Krankheitsantwort (Swoboda et al. 1995b; Swoboda et al. 1996; Walter et al. 1996) aber eigentlich näher liegt. Auch eine regulatorische Rolle einer RNase-Aktivität durch selektiven Abbau bestimmter mRNA-Transkripte wurde diskutiert (Walter et al. 1996), was besonders gut zur Lokalisierung im Zytosol sowie zur Beteiligung sowohl an natürlichen Entwicklungsprozessen als auch an der Stressantwort der jeweiligen Pflanze passen würde.

Allerdings zeigten das natürliche Isoformengemisch von Bet v 1 aus Pollen, Bet v 1.0101, Bet v 1.2801 sowie Bet v 1.0101 M139L (Bufe et al. 1996b; Swoboda et al. 1996; Boehm 1998), LaPR-10 (Bantignies et al. 2000), LIPR10.1A (Biesiadka et al. 2002) und SPE16 (Wu et al. 2002) lediglich eine schwache (teilweise drei Größenordnungen schwächer als die der als Positivkontrolle verwendeten RNase A) RNase-Aktivität noch nicht genau bekannter Spezifität, die (soweit untersucht) unabhängig von zweiwertigen Kationen und daher unempfindlich gegenüber EDTA war, sich aber durch Acetatpuffer, Dithiothreitol oder den RNase-Inhibitor zumindest teilweise inhibieren ließ (Bufe et al. 1996b; Bantignies et al. 2000). Wegen dieser Unempfindlichkeit gegenüber EDTA, ihren relativen Molekülmassen um 17 kDa und ihrem für optimale RNase-Aktivität notwendigen neutralen bis schwach sauren pH-Wert wurde für Bet v 1 und die PR-10-Familie eine Klassifizierung als RNase der Klasse II (zusammengefasst in Green 1994; Bariola und Green 1997) vorgeschlagen (Bantignies et al. 2000). Andere PR-10-Proteine wie PR-10a oder STH2 (Constabel und Brisson 1995) und LIPR10.1A (Biesiadka et al. 2002) zeigten hingegen gar keine RNase-Aktivität. Zudem zeigen weder die Sequenz noch die Tertiärstruktur der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine irgendeine signifikante Ähnlichkeit zu den bisher bekannten RNasen, wobei jedoch zu berücksichtigen ist, dass bisher fast ausschließlich extrazelluläre RNasen untersucht wurden, so dass über intrazelluläre RNasen nur wenig bekannt ist (zusammengefasst in Green 1994; Bariola und Green 1997). Insbesondere fehlen die beiden hochkonservierten Histidin-Reste, die bei RNase A und anderen pankreatischen RNasen (zusammengefasst in Cuchillo et al. 1997) sowie bei S-Glykoproteinen und anderen RNasen vom Typ T<sub>2</sub> (siehe oben) zusammen mit anderen Resten das katalytische Zentrum bilden, obwohl sich die RNase-Aktivität des natürlichen Isoformengemischs von Bet v 1 aus Pollen (Bufe et al. 1996b) und LaPR-10 (Bantignies et al. 2000) durch den normalerweise für pankreatische RNasen spezifischen RNase-Inhibitor (zusammengefasst in Hofsteenge 1997) teilweise inhibieren ließ, so dass sich die Hypothese der RNase-Aktivität als primäre physiologische Funktion der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine bis heute nicht allgemein durchsetzen konnte (Bariola und Green 1997) und nicht auszuschließen ist, dass die bei manchen dieser Proteine beobachtete schwache RNase-Aktivität nur ein Nebenprodukt der eigentlichen, noch unbekannten physiologischen Funktion darstellt. Pikanterweise bestehen diese Zweifel aus genau den gleichen Gründen (Bariola und Green 1997) auch an der von der gleichen Arbeitsgruppe wie beim natürlichen Isoformengemisch von Bet v 1 aus Pollen beschriebenen RNase-Aktivität des nicht mit Bet v 1 und der PR-10-Familie verwandten Hauptallergens Phl p 5 aus Pollen des Wiesenlischgrases (Phleum pratense; Bufe et al. 1995), wo die sich aus der unter Beteiligung dieser Arbeitsgruppe bestimmten Kristallstruktur des angeblich RNase-aktiven Fragments [Phl p 5b]' (Bufe et al. 1996a) ergebenden Anhaltspunkte für einen möglichen katalytischen Mechanismus ganz offensichtlich noch nicht einmal für eine Erwähnung dieser RNase-Aktivität in der betreffenden Veröffentlichung ausreichten (Rajashankar et al. 2002).

### 1. Einleitung



Abb. 1.5 Überlagerung der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion E pot von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) mit einem Fragment der Kristallstruktur der Adenylat-Kinase aus der Bäckerhefe (Escherichia coli) im Komplex mit dem Inhibitor Ap<sub>5</sub>A und Mg<sup>2+</sup> (Abele und Schulz 1995, PDB-Kennung 2AKY). Dargestellt ist jeweils das Proteinrückgrat. Die C-Atome sind bei der Adenylat-Kinase grau farbcodiert und bei Pru av 1 wt grün, die N-Atome blau und die C-Atome rot. Ebenfalls dargestellt sind die Seitenketten von Glu 45, Thr 52 und Lys 54 von Pru av 1 wt sowie von Lys 17 und Thr 19 der Adenylat-Kinase. Die beiden Adeninreste des Inhibitors Ap<sub>5</sub>A sind entsprechend der Position der Substrate der Adenylat-Kinase mit ATP und AMP bezeichnet, die fünf Phosphatgruppen von  $\alpha$  bis  $\varepsilon$  durchnummeriert. Die Amidgruppen des Proteinrückgrats der P-Schleife der Adenylat-Kinase sind so orientiert, dass sie mit ihrer positiven Partialladung wesentlich zur Bindung insbesondere der  $\beta$ - und der  $\gamma$ -Phosphatgruppe beitragen können. Auch die Seitenketten von Lys 17 und Thr 19 sind an der Phosphatbindung beteiligt, wohingegen das Mg<sup>2+</sup>-Ion durch die Phosphatgruppen des Inhibitors Ap<sub>5</sub>A und mehrere Wassermoleküle gebunden wird. Die Konformation des Proteinrückgrats der P-Schleife von Pru av 1 wt ist von Gly 48 bis Thr 52 praktisch identisch mit der der Adenylat-Kinase von Gly 11 bis Ala 15, darüber hinaus allerdings nicht mehr, so dass sich die Position des hochkonservierten Lys 54 bzw. Lys 17 bereits deutlich unterscheidet. Eine Phosphatbindung an Pru av 1 wt nach dem gleichen Muster scheidet schon allein wegen des sterischen Konflikts mit dem Faltblattstrang  $\beta_4$  aus.

Zu den unter den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen am höchsten konservierten Sequenzbereichen zählt die glycinreiche Schleife zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_2$ und  $\beta_3$  (Abb. 1.2) von Glu 45 bis Lys 54 (Abb. 1.1 und Abb. 1.4). Solche glycinreiche Sequenzmotive mit einem hochkonservierten Lysin am Ende kennt man von nukleotidbindenden Proteinen wie Adenylat-Kinasen, ras-Proteinen, Elongationsfaktoren, ATP-Synthasen, Myosin, Thymidin-Kinasen oder Phosphoglycerat-Kinasen als Phosphatbindungsschleifen oder kurz P-Schleifen (zusammengefasst in Saraste et al. 1990; Bossemeyer 1994), ursprünglich Walker-Motiv A genannt (Walker et al. 1982). Diese P-Schleifen unterscheiden sich bereits

von ihrer Sequenz her erheblich zwischen den verschiedenen Familien von nukleotidbindenden Proteinen. Die Sequenzen der P-Schleifen der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine (Abb. 1.1 und Abb. 1.4) stimmen abgesehen vom fehlenden Threonin am Ende beispielsweise recht gut mit der typischen Sequenz GXPGXGKGT (X bezeichnet dabei eine beliebige Aminosäure) der P-Schleifen von Adenylat-Kinasen (Saraste et al. 1990) überein. Dementsprechend ist die Konformation des Proteinrückgrats der P-Schleife der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) von Gly 48 bis Thr 52 praktisch identisch mit der der Kristallstruktur der Adenylat-Kinase aus der Bäckerhefe (Escherichia coli) im Komplex mit dem Inhibitor Ap<sub>5</sub>A und Mg<sup>2+</sup> (Abele und Schulz 1995, PDB-Kennung 2AKY) von Gly 11 bis Ala 15 (Abb. 1.5), die atomare Standardabweichung einschließlich der für die Elektrostatik der P-Schleife wichtigen Carbonylsauerstoffatome beträgt über diese fünf Reste lediglich 1,05 Å. Die Strukturhomologie dieser beiden P-Schleifen ist allerdings auf diese fünf Reste beschränkt; während sich bei der Adenylat-Kinase und den meisten anderen nukleotidbindenden Proteinen eine α-Helix anschließt, deren positiver Pol ihres elektrischen Nettodipolmoments (Branden und Tooze 1998, Kapitel 2; Fersht 1998, Abschnitt 1.C.1.b) zusammen mit den positiven Partialladungen der Amidgruppen des Proteinrückgrats der P-Schleife wesentlich an der Bindung der negativ geladenen Phosphatgruppen beteiligt ist (Abb. 1.5; zusammengefasst in Saraste et al. 1990; Bossemeyer 1994), folgt bei Pru av 1 wt der Faltblattstrang  $\beta_3$  (Abb. 1.2), und das hochkonservierte Lys 54 befindet sich daher bereits an einer deutlich von der des ebenfalls an der Phosphatbindung beteiligten äquivalenten Lys 17 der Adenylat-Kinase abweichenden Position (Abb. 1.5). Eine direkte Übertragung der Bindungsweise der Phosphatgruppen von Ap<sub>5</sub>A an die Adenylat-Kinase auf eine potentielle Phosphatbindung von Pru av 1 wt ist also ganz offensichtlich nicht möglich, zumal sie schon allein durch ernst zu nehmende sterische Konflikte mit dem Faltblattstrang  $\beta_4$  ausscheidet (Abb. 1.5). Einen weiteren Unterschied stellt die unter den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen ebenfalls hochkonservierte Seitenkette von Thr 52 (Abb. 1.1 und Abb. 1.4) dar, dessen Hydroxylgruppe sowohl bei Bet v 1.0101 M139L (Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000) als auch bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000), Pru av 1 E45W (Abschnitt 4.5.2.1; Neudecker et al. 2003b) und Gly m 4 (Abschnitt 4.6.1; Neudecker et al. 2003a) langsam mit den Protonen des Lösungsmittels austauscht und die Konformation des Proteinrückgrats der P-Schleife durch eine Reihe von Wasserstoffbrücken mit den Amidgruppen von Asp 47, Gly 48 und Gly 49 sowie mit der Carbonylgruppe von Gly 49 von Pru av 1 wt stabilisiert (Abb. 1.5). Dieser beispielhafte Vergleich der P-Schleife von Pru av 1 wt mit der P- Schleife der Adenylat-Kinase aus der Bäckerhefe im Komplex mit dem Inhibitor Ap<sub>5</sub>A und  $Mg^{2+}$  lässt sich wegen der bereits angesprochenen hohen Variabilität der P-Schleifen unterschiedlicher nukleotidbindender Proteine natürlich nicht ohne weiteres verallgemeinern, eine auch nur einigermaßen umfassende Darstellung würde den Rahmen dieser Arbeit allerdings bei weitem sprengen. Die P-Schleife der H-*ras*-Onkogen-p21-GTPase (Pai et al. 1990, PDB-Kennung 5P21) weicht jedenfalls noch stärker von der der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine ab (Biesiadka et al. 2002) als die der oben betrachteten Adenylat-Kinase aus der Bäckerhefe.

Eine im Vergleich zur PR-10-Familie deutlich niedrigere Sequenzidentität von meist unter 25 % zeigen die mit Bet v 1 verwandten Allergene mit der MLP-Familie von Proteinen ebenfalls unbekannter physiologischer Funktion (Osmark et al. 1998), deren erste Mitglieder aus dem Latex des Schlafmohns (*Papaver sonniferum*) kloniert wurden (Nessler und Burnett 1992) und die später auch in anderen Pflanzen wie etwa der Paprika (*Capsicum annuum*; Pozueta-Romero et al. 1995) nachgewiesen wurden. Bei diesen MLP-Proteinen ist auch die Aminosäuresequenz der P-Schleife weniger konserviert als bei den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und den PR-10-Proteinen, obwohl sich das einzige Intron wiederum an der gleichen Position befindet (Nessler und Burnett 1992; Pozueta-Romero et al. 1995) wie schon bei den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und den PR-10-Proteinen (siehe oben). Vor kurzem wurde mit MSG aus der Sojabohne (*Glycine max*; Strömvik et al. 1999) erstmals ein MLP-Protein aus einer Pflanze nachgewiesen, die mit Gly m 4 oder SAM22 und H4 (siehe oben) auch PR-10-Proteine exprimiert.

Ein weiteres mit Bet v 1 und der PR-10-Familie entfernt verwandtes Protein ist das aus 154 Aminosäuren (ohne das NH<sub>2</sub>-terminale Methionin) bestehende CSBP aus der Mungbohne (*Vigna radiata*; Fujimoto et al. 1998) mit einer relativen Molekülmasse von etwa 17,6 *kDa* und einem berechneten isoelektrischen Punkt von 4,7, dessen Sequenz zu 26,6 % mit der von Bet v 1.0101 identisch ist. CSBP bindet eine Reihe von zur Klasse der Cytokinine gehörenden pflanzlichen Hormonen mit sehr hoher Affinität (Dissoziationskonstanten in der nanomolaren Größenordnung), und zwar interessanterweise sowohl die natürlichen purinbasierten Cytokinine wie beispielsweise Zeatin als auch synthetische harnstoffbasierte Cytokinine in ähnlicher Weise (Fujimoto et al. 1998). Die Verwandtschaft der purinbasierten Cytokinine mit purinbasierten Nukleotiden suggeriert die P-Schleife als potentielle Ligandenbindungsstelle. In der Tat ist die Aminosäuresequenz der P-Schleife der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine (Abb. 1.1 und 1.4) auch bei CSBP konserviert, lediglich das hochkonservierte Lys 54 von Bet v 1.0101 an ihrem Ende ist durch ein Leucin ersetzt und das mit Lys 54 eine Salzbrücke bildende ebenfalls hochkonservierte Asp 27 dementsprechend durch ein Isoleucin, was ausgezeichnet dazu passt, dass bei der Bindung von purinbasierten Cytokininen wie Zeatin im Gegensatz zu purinbasierten Nukleotiden wie ATP keine negativ geladenen Phosphatgruppen zu neutralisieren sind.

### 1.2.1.5 Die START-Superfamilie

Der Kreis dieser auf Grund ihrer signifikanten Sequenzidentität identifizierten mit Bet v 1 verwandten Proteinfamilien wurde erheblich erweitert, als vor kurzem die dreidimensionale Struktur der START-Domäne des menschlichen Proteins MLN64 oder StarD3 durch Röntgenkristallographie bestimmt werden konnte (Tsujishita und Hurley 2000, PDB-Kennung 1EM2). Ein Vergleich dieser Kristallstruktur mit der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion E pot von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) mit Hilfe des Dali-Servers (Holm und Sander 1993) beispielsweise lieferte eine atomare Standardabweichung von lediglich 2,89 Å für das Proteinrückgrat über immerhin 133 Aminosäuren (Abb. 1.6; Standardabweichung der C $\alpha$ -Atomkoordinaten 3,0 Å entsprechend einem z-Score von 10,3), obwohl die Sequenzidentität über die gleichen 133 Aminosäuren nur 8,5 % beträgt. Im Gegensatz zu Pru av 1 wt besitzt die START-Domäne von MLN64 allerdings noch eine zusätzliche α-Helix gefolgt von zwei zusätzlichen β-Faltblattsträngen am NH<sub>2</sub>-Terminus. MLN64 wird in manchen Mammakarzinomzellen besonders stark exprimiert und ermöglicht vermutlich die Freisetzung von Cholesterin aus den Lysosomen, in denen es durch seine NH<sub>2</sub>-terminale Domäne mit vier Transmembranhelices verankert ist (zusammengefasst in Strauss et al. 2003; Tsujishita 2003), Das biochemisch wesentlich besser untersuchte, ebenfalls menschliche Protein StAR oder StarD1, dem die START-Domänen ihren Namen verdanken und dessen Sequenzidentität mit der START-Domäne von MLN64 etwa 35 % beträgt, bindet ein Cholesterin-Molekül im hydrophoben Hohlraum im Inneren seiner START-Domäne (Abb. 1.6) und importiert es anschließend auf noch nicht genau bekannte Weise (zusammengefasst in Stocco 2000; Strauss et al. 2003; Tsujishita 2003) in die Mitochondrien der Zellen der Nebennierenrinde und der Keimdrüsen. Dieser Transport von Cholesterin von der cholesterinreichen äußeren Mitochondrienmembran zur cholesterinarmen inneren Mitochondrienmembran stellt den ratenlimitierenden Schritt des am Beginn der Steroidbiosynthese stehenden Abbaus der Seitenkette von Cholesterin zur Herstellung von Pregnenolon (Stryer 1995, Kapitel 27) durch das Enzym Cytochrom P450scc dar und seine Regulation ist daher von grundsätzlicher Bedeutung für die rasche Ausschüttung von Steroidhormonen aus der Nebennierenrinde und den Keimdrüsen nach Stimulation durch das Peptidhormon Corticotropin (ACTH) aus der Hypophyse (Tsujishita und Hurley 2000; Stocco 2000). Die Expression von StAR, das sich vor allem im Zytosol befindet, wird dabei durch das nach Stimulation durch ACTH hergestellte zyklische AMP (cAMP) hochreguliert und seine Aktivität (genauer gesagt vermutlich die Rate seines Mitochondrienimports) von der Proteinkinase A durch Phosphorylierung von Ser 195 gesteigert (Tsujishita und Hurley 2000; Strauss et al. 2003), welches allerdings weder bei MLN64 noch bei den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen konserviert ist. Da der hydrophobe Hohlraum im Innern der START-Domäne von MLN64 genauso wie der von StAR im Reagenzglas ein Cholesterin-Molekül binden kann (Tsujishita und Hurley 2000), lässt die auffällige strukturelle Verwandschaft Phytosteroide als potentielle Liganden für den hydrophoben Hohlraum im Innern der mit Bet v 1 verwandten Allergene (Abb. 1.2; Abb. 1.6; Abb. 4.5; Abb. 4.6) vermuten.



Abb. 1.6 Überlagerung des Proteinrückgrats der Pru av 1 wt-Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  (grün) und der Kristallstruktur der START-Domäne von MLN64 (rot). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2. Die Faltung beider Proteine ist mit Ausnahme einiger Schleifen, insbesondere auch der P-Schleife zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_2$  und  $\beta_3$  von Pru av 1 wt (ganz unten, vgl. Abb. 1.2) im Wesentlichen identisch, im Innern verbleibt ein großer hydrophober Hohlraum. Die START-Domäne von MLN64 besitzt am NH<sub>2</sub>-Terminus noch eine zusätzliche  $\alpha$ -Helix gefolgt von zwei zusätzlichen  $\beta$ -Faltblattsträngen.

In der Zwischenzeit konnte mit Phosphatidylinositol-Transfer-Protein Isoform  $\alpha$  (PITP) aus der Ratte (*Rattus norvegicus*) im Komplex mit einem Molekül Distearoyl-3-*sn*-phosphatidylcholin (PtdCho) (Yoder et al. 2001, PDB-Kennung 1FVZ) sowie aus der Maus (*Mus*  musculus) ohne Liganden (Schouten et al. 2002, PDB-Kennung 1KCM), StarD4 aus der Maus (Mus musculus; Romanowski et al. 2002, PDB-Kennung 1JSS) und Phosphatidylcholin-Transfer-Protein (PCTP) oder StarD2 aus dem Menschen (Homo sapiens) im Komplex mit Dilinoleoyl-3-sn-phosphatidylcholin (Roderick et al. 2002, PDB-Kennungen 1LN1 und 1LN2) sowie im Komplex mit 1-Palmitoyl-2-linoleoyl-3-sn-phosphatidylcholin (Roderick et al. 2002, PDB-Kennung 1LN3) die dreidimensionale Struktur noch einiger weiterer Domänen der START-Superfamilie durch Röntgenkristallographie bestimmt werden. Der Promoter des für StarD4 codierenden Gens enthält ein steroidreguliertes Element und seine Transkription wird dementsprechend in der Leber cholesterinreich ernährter Mäuse um etwa einen Faktor 3 herunterreguliert (Soccio et al. 2002). StarD4 wird in allen Gewebearten exprimiert, seine genaue physiologische Funktion ist allerdings noch unbekannt. Nach StarD5 und StarD6, deren physiologische Funktion ebenfalls noch unbekannt ist, sind die START-Domäne von MLN64 mit einer Sequenzidentität von 21 % und StAR mit einer Sequenzidentität von 16 % bereits die engsten bekannten Verwandten von StarD4 (Soccio et al. 2002), so dass die Kristallstruktur von StarD4 (Romanowski et al. 2002, PDB-Kennung 1JSS) der der START-Domäne von MLN64 (Tsujishita und Hurley 2000, PDB-Kennung 1EM2) sehr ähnlich ist und ein Vergleich mit Hilfe des Dali-Servers eine Standardabweichung der Ca-Atomkoordinaten von 1,7 Å über 196 Aminosäuren entsprechend einem z-Score von 26,5 lieferte (Romanowski et al. 2002). Da der hydrophobe Hohlraum im Innern von StarD4 etwa genauso groß ist wie der der START-Domäne von MLN64 und da StarD4 daher vermutlich ebenso ein Steroidmolekül mit allerdings noch unbekannter Spezifität binden kann, wurde der zytosolische Transport von Steroiden und anderen Lipiden als physiologische Funktion von StarD4 vorgeschlagen (Soccio et al. 2002).

Phosphatidylinositol-Transfer-Proteine findet man bei fast allen Eukaryoten. Bei Säugetieren zeigen seine beiden Isoformen  $\alpha$  und  $\beta$  bei einer Sequenzidentität von etwa 80 % zwar eine unterschiedliche gewebespezifische Expression, binden jedoch beide jeweils ein Phosphatidylinositol- oder Phosphatidylcholin-Molekül und katalysieren den Austausch und Transport dieser Phospholipide zwischen Membranoberflächen im Rahmen einer Reihe verschiedener physiologischer Prozesse (Tremblay et al. 1996; Yoder et al. 2001; Schouten et al. 2002). Das zytosolische Phosphatidylinositol-Transfer-Protein Isoform  $\alpha$  (PITP) ist mit mehr als 98 % Sequenzidentität unter den verschiedenen Säugetierarten hochkonserviert. Ein Vergleich seiner Kristallstruktur im Komplex mit einem PtdCho-Molekül (Yoder et al. 2001, PDB-Kennung 1FVZ) mit der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) mit Hilfe des
Dali-Servers (Holm und Sander 1993) lieferte eine Standardabweichung der Cα-Atomkoordinaten von 4.2 Å über 143 Aminosäuren entsprechend einem z-Score von 8,1. Beschränkung auf 131 Aminosäuren reduzierte die atomare Standardabweichung des Proteinrückgrats allerdings auf lediglich 3.34 Å (Abb. 4.8), obwohl die Sequenzidentität über die gleichen 131 Aminosäuren nur 13,7 % beträgt. Der hydrophobe Hohlraum im Innern von PITP ist deutlich größer als der der START-Domäne von MLN64 und zeigt daher seine höchste Affinität für Phospholipide mit relativ langkettigen Fettsäureseitenketten von jeweils etwa 14 bis 18 Kohlenstoffatomen (Yoder et al. 2001). Zwischen den zu  $\beta_6$  und  $\beta_7$  von Bet v 1 und Pru av 1 äquivalenten Faltblattsträngen besitzt PITP eine lange, weitgehend schleifenartige zusätzliche Subdomäne mit einem zusätzlichen  $\beta$ -Faltblattstrang und drei kurzen  $\alpha$ -helikalen Bereichen, die durch die Proteinkinase C am unter den beiden Isoformen  $\alpha$  und  $\beta$  der Phosphatidylinositol-Transfer-Proteine der verschiedenen Säugetierarten hochkonservierten Ser 166 phosphoryliert wird und daher vermutlich die regulatorische Subdomäne darstellt, sowie am COOH-Terminus eine zusätzliche  $\alpha$ -Helix, die vermutlich die kontrollierte Membranassoziation und vor allem Membrandissoziation ermöglicht (Abb. 4.8; Tremblay et al. 1996; Yoder et al. 2001; Schouten et al. 2002). Zur Bindung der negativ geladenen Phosphatgruppe der PtdCho-Kopfgruppe dient vor allem die Seitenkette des ebenfalls hochkonservierten Lys 195, das zu Ile 116 von Bet v 1.0101 bzw. Ser 116 von Pru av 1 äquivalent ist, wie das in Abb. 1.7 dargestellte strukturbasierte Sequenzalignment von Bet v 1.0101 und Pru av 1 mit den Domänen der START-Superfamilie bekannter dreidimensionaler Struktur in der FSSP (Holm und Sander 1996) zeigt.

Bet_v_1.0101 Pru_av_1 MLN64_START PITP StarD4	sfs;	 a q 	 e r 	e	 yi 	r i	 q g  s t	, k k	e I	at qr	: a n t	v i	· · · · · · · · ·		i h	   . s i	aq e	e	 e r  d e		 k f  r v	: e / a	K	 n r  k a	ak	у ( d \	d / t	t v	vy wr	t k	ie ps	v e	pf	1 G h n	V V G V G	F I F L I Y I	N Y T F L Y			F F V G G	10 TTFLV
Bet_v_1.0101 Pru_av_1 MLN64_START PITP StarD4	VIP EIPI PCP DDV		R L R L N N	- F - F / Υ / Q / Ι α <sub>1</sub>	20 K A Q E V O D F		L V L   L . L		GAPSP		V	L L X E γ R	30 F F V F A S		×-×z¥)	AI AI et DI	00 √.g	A A T g L	ISI VT gE MT	40 S H A G S H S						G. G. P.	, e	P-Sc	 d d hleit	g	ed ek ee	GGNGN	50 P ( P ( C (	G T G T - I Y T C V		KK SKM	KI YE RY β <sub>3</sub>	SHATCHS	FFC sa La	60 E E g S g g g g	GF GS a V q I
Bet_v_1.0101 Pru_av_1 MLN64_START PITP StarD4	ggv Inii	P Q S P S	F. Y. P. tf P.	V	  r n	n İ	  		g	.   . () .   a   .		V F F	κ [ κ μ ν μ β4		0 > _ R < Ø				H T K E R F G N	r Rr r	.   .   d   	N F N Y R Y G L	80 K S L Y L	Y N Y S S C F S C	NΥ SG SG CG β₅	STIVE	V I A T S V >	EEsN.	 h s  . e	a W	kp se	p t	t i r i	nk oe	y f	G G I V I E V I	9 G A G D R G R G R G R G R G R G R G R G R G R G	0 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	G E G E  K E	) T ) T E D	L E L E  . F
Bet_v_1.0101 Pru_av_1 MLN64_START PITP StarD4	K I S K I S N G P ( L I K I N H P (	100 Ν Ε G G C G β₀	I F T F X I T V		VVLKV VVLKV	T S S D L	 a.g k.	, t	q	  e r	י. י. יער י	h	k I	e	p	 e a	a w	, k	  h v	e	  v i			 d i	a	d i	· · s	q	  v I		 k d		k		e	d [	pa		  f k	S	  i k
Bet_v_1.0101 Pru_av_1 MLN64_START PITP StarD4	tgr	g p	    ç		  n v		  q e		V	  n o	s d d	P P N d S		110 3 G 3 G 3 V 9 Y 5 Q	S S S S S S S S S S S S S S S S S S S	             	- K = V - T	∟ ∽≥×G	SΝ Τ S Ι L ΥΙ β <sub>7</sub>		120 Y   Y   T   T   T		KK-K-	G[ G] kg W\ rg	D. N. Vg Jm	.        		VIYKS	K. Li Ve		0 G E E Q F T A		K K A K A	A S A G A T Q T S T	KKXKL	E I F I R I		40 S S A T Y	TL NL FF SC		R A K L R G R K
Bet_v_1.0101 Pru_av_1 MLN64_START PITP StarD4	V E S I E T R I S L F C G L R	150 Y L Y L E L WL	L / K ( G / 	Α Η Ξ Η Α .	S C P C D K	) A ) A ( W	1 Y M Y M V C	159 1. 1. 0.	t	  m c			  r r			  e e		k	  r c		  d e			  q k		  p v	/ k	g	m t	a	d										

Abb. 1.7 Strukturbasiertes Sequenzalignment mit Bet v 1.0101 von Pru av 1 (PDB-Kennung 1E09, 59,1 % Sequenzidentität mit Bet v 1.0101 über alle 159 Reste), der START-Domäne von MLN64 (1EM2, 8,3 % über 132 Reste, Standardabweichung der C $\alpha$ -Atomkoordinaten von denen der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 mit der PDB-Kennung 1BV1 2,9 Å entsprechend einem z-Score von 10,7), PITP (1FVZ, 12,1 % über 140 Reste, 3,2 Å, 10,4) und StarD4 (1JSS, 7,1 % **über 126 Reste**, 3, 1 Å, **9,3).** Die über den Sequenzen angegebenen Sequenzpositionen beziehen sich auf Bet v 1.0101. Die beim Alignment verwendeten Reste sind jeweils in Großbuchstaben dargestellt, alle anderen Reste in Kleinbuchstaben. Der Buchstabe X bezeichnet dabei die zur Bestimmung der Phasen der Strukturfaktoren künstlich in die START-Domäne von MLN64 eingeführten Selenomethionin-Reste. Lücken im Alignment sind durch Punkte markiert. Bei mindestens 3 der 5 Domänen konservierte Reste sind grau hinterlegt, kein einziger Rest ist bei allen 5 Domänen konserviert. Die Sekundärstrukturelemente sowie die P-Schleife von Bet v 1 (Faber 1996; Faber et al. 1996; Gajhede et al. 1996; Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000; Markovic-Housley et al. 2003) und Pru av 1 (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a) sind unter dem Alignment dargestellt, die Insertionen und Deletionen der anderen START-Domänen befinden sich fast alle außerhalb der weitgehend konservierten Sekundärstrukturelemente. Die START-Domäne von MLN64 (Tsujishita und Hurley 2000, PDB-Kennung 1EM2) und StarD4 (Romanowski et al. 2002, PDB-Kennung 1JSS) besitzen am NH<sub>2</sub>-Terminus noch eine zusätzliche α-Helix gefolgt von zwei zusätzlichen  $\beta$ -Faltblattsträngen (Abb. 1.6), PITP (Yoder et al. 2001, PDB-Kennung 1FVZ) zwischen den zu  $\beta_6$ und  $\beta_7$  von Bet v 1 und Pru av 1 äquivalenten Faltblattsträngen eine weitgehend schleifenartige regulatorische Subdomäne mit einem zusätzlichen  $\beta$ -Faltblattstrang und drei kurzen  $\alpha$ -helikalen Bereichen sowie am COOH-Terminus eine zusätzliche  $\alpha$ -Helix (Abb. 4.8). Die P-Schleife ist nur bei Bet v 1.0101 und Pru av 1 konserviert. Das Alignment wurde mit Hilfe der auf dem Dali-Server (Holm und Sander 1993) beruhenden Datenbank FSSP (Holm und Sander 1996) erstellt und mit ALSCRIPT (Barton 1993) formatiert.

Obwohl PCTP, dessen genaue physiologische Funktion noch unbekannt ist und dessen Kristallstruktur zum Zeitpunkt des Schreibens dieser Arbeit leider noch nicht in die FSSP (Holm und Sander 1996) aufgenommen worden war, genauso wie PITP Phospholipide bindet, ist seine Sekundär- und Tertiärstruktur (Roderick et al. 2002, PDB-Kennungen 1LN1, 1LN2 und 1LN3) der der START-Domäne von MLN64 (Tsujishita und Hurley 2000, PDB-Kennung 1EM2) und der von StarD4 (Romanowski et al. 2002, PDB-Kennung 1JSS) wesentlich ähnlicher als der von PITP (Yoder et al. 2001, PDB-Kennung 1FVZ), insbesondere besitzt PCTP im Vergleich zu Pru av 1 wt wie MLN64 und StarD4 noch eine zusätzliche  $\alpha$ -Helix regulatorische Subdomäne noch eine zusätzliche α-Helix am COOH-Terminus wie PITP. Der Mechanismus der Regulation sowie der Membranassoziation und -dissoziation von PCTP dürfte also eher dem der klassischen START-Proteine als dem von PITP entsprechen. Allerdings ist der hydrophobe Hohlraum im Innern von PCTP etwas größer als der im Innern der START-Domäne von MLN64 und von StarD4, um Phosphatidylcholine mit relativ langkettigen Fettsäureseitenketten von jeweils etwa 14 bis 18 Kohlenstoffatomen aufnehmen zu können. Zur Bindung der negativ geladenen Phosphatgruppe der Phosphatidylcholin-Kopfgruppe dient vor allem die Seitenkette von Arg 68 (äquivalent zu Leu 29 von Bet v 1.0101 und Pru av 1, Met 307 von MLN64, Glu 28 von PITP und Arg 92 von StarD4; Abb. 1.7), die durch eine Salzbrücke mit Asp 82 (äquivalent zu Ala 34 von Bet v 1.0101 und Pru av 1, Asn 311 von MLN64, evtl. Glu 33 von PITP und Asp 96 von StarD4; Abb. 1.7) stabilisiert wird. Die positiv geladene Cholingruppe der Phosphatidylcholin-Kopfgruppe wird durch die  $\pi$ -Elektronenwolken der einen Käfig bildenden aromatischen Seitenketten von Trp 101 (äquivalent zu Ile 56 von Bet v 1.0101 und Pru av 1, Asp 332 von MLN64, Tyr 63 von PITP und Tyr 117 von StarD4), Tyr 114 (äquivalent zu Val 76 von Bet v 1.0101 und Pru av 1, Phe 347 von MLN64, Ile 84 von PITP und Phe 132 von StarD4) und Tyr 155 (äquivalent zu Ile 98 von Bet v 1.0101 und Pru av 1, Gly 384 von MLN64, Ile 110 von PITP und His 167 von StarD4) gebunden (Roderick et al. 2002), was die Spezifität von PCTP für Phosphatidylcholin erklärt, wohingegen PITP neben Phosphatidylinositol mit etwa 16-fach niedrigerer Affinität auch Phosphatidylcholin binden kann (Schouten et al. 2002). Diese beiden Motive zur Bindung der zwitterionischen Phosphatidylcholin-Kopfgruppe sind interessanterweise lediglich bei StarD4 konserviert, so dass mir trotz des relativ kleinen Holhlraums im Innern von StarD4 Phosphatidylcholin als physiologischer Ligand von StarD4 wesentlich plausibler erscheint als die in der Literatur favorisierten Steroide (siehe oben).

Eine durch die strukturelle Verwandschaft der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine mit den klassischen START-Domänen stimulierte umfangreiche Sequenzdatenbankanalyse lieferte zusätzlich zu den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen einschließlich der MLP-Proteine und CSBP einerseits und den klassischen START-Domänen einschließlich PITP andererseits noch drei weitere zur so genannten START-Superfamilie gehörende Proteinfamilien, neben zwei Proteinfamilien unbekannter Funktion auch eine Proteinfamilie von Cyclasen/Aromatasen in Bakterien, Archaeen und Eukaryoten, deren physiologische Funktion in der Katalyse der Zyklisierung linearer Polyketide unter Abspaltung von Wassermolekülen und Bildung aromatischer Ringe im Rahmen der Biosynthese bestimmter Polyketidantibiotika besteht (Iyer et al. 2001). Alleine die Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*), deren Genom bereits vollständig sequenziert wurde, besitzt insgesamt 59 zur START-Superfamilie gehörende Proteine, darunter eine Cyclase/Aromatase, 20 Proteine mit einer klassischen START-Domäne und 20 entfernt mit Bet v 1 verwandte Proteine (Iyer et al. 2001), also wie schon bei den klassischen PR-10-Genen (Abschnitt 1.2.1.4) eine relativ große Multigenfamilie.

#### 1.2.2 Bet v 2 und verwandte Allergene

Etwa 10 % bis 20 % der auf Birkenpollen allergischen Patienten besitzen IgE-Antikörper gegen das aus 133 Aminosäuren aufgebaute Nebenallergen Bet v 2 mit einer relativen Molekülmasse von etwa 14,3 kDa und einem leicht sauren berechneten isoelektrischen Punkt von 5,0 (Valenta et al. 1991). Bet v 2 gehört zur Familie der Profiline, die in fast allen eukaryotischen Zellen vorkommen und dort an Actin binden, vermutlich zur Regulation der Actin-Polymerisierung beim Aufbau des Zytoskeletts. Da die Profiline auch Poly-L-Prolin binden, werden sie vermutlich durch prolinreiche Liganden an Stellen mit einem hohen Wachstumsbedarf des Zytoskeletts zusammengezogen. Außerdem dürften die Profiline durch ihre Bindung an Polyphosphoinositide wie Phosphatidylinositol-4-phosphat (PIP) und Phosphatidylinositol-4,5-biphosphat (PIP<sub>2</sub>) auch an der Signaltransduktion beteiligt sein (zusammengefasst in Vieths 2002a). Wie die fehlende Signalpeptidsequenz bereits vermuten lässt, befindet sich auch Bet v 2 nach den Ergebnissen elektronenmikroskopischer Untersuchungen zunächst ausschließlich im Zytosol der Pollen, wo es vermutlich vor allem als Komplex mit Actin vorliegt (Vrtala et al. 1993; Grote et al. 1993; Grote 1999). Genauso wie Bet v 1 (Abschnitt 1.2.1.4) wird Bet v 2 bei Hydrierung der Pollen, sei es im Rahmen der Pollenkeimung auf der Narbe oder im Rahmen einer allergischen Reaktion auf den Nasenschleimhäuten eines Pollenallergikers, innerhalb von Minuten freigesetzt (Vrtala et al. 1993; Grote et al. 1993), was nicht nur die Allergenizität eines intrazellulären Proteins wie Bet v 2 erklärt, sondern durch Mobilisierung von Actin auch die zum Herauswachsen der Pollenschläuche notwendigen Veränderungen des Zytoskeletts der Pollen einleiten könnte (Grote et al. 1993).

Wegen ihrer weiten Verbreitung bei fast allen Eukaryoten und ihrer hohen IgE-Kreuzreaktivität stellen die Profiline so genannte Panallergene dar (Valenta et al. 1991), und vom Allergen Nomenclature Sub-Committee der IUIS sind neben Bet v 2 bisher (Stand: 2. 3. 2003) bereits 22 weitere Profiline mit zum Teil mehreren Isoformen und Varianten offiziell als Allergene beschrieben (King et al. 1994, URL: http://www.allergen.org). Neben einer Reihe weiterer Pollenallergene befinden sich darunter auch mehrere Nahrungsmittelallergene wie beispielsweise Ara h 5 aus Erdnüssen (Arachis hypogaea; Kleber-Janke et al. 1999; Kleber-Janke et al. 2001), die Varianten Gly m 3.0101 und Gly m 3.0102 aus Sojabohnen (Glycine max; Rihs et al. 1999), Api g 4 aus Sellerie (Apium graveolens; Scheurer et al. 2000), Pyr c 4 aus Birnen (Pyrus communis; Scheurer et al. 2001a), Pru av 4 aus Kirschen (Prunus avium; Scheurer et al. 2001a), Cor a 2 aus Haselnüssen (Corylus avellana; Lüttkopf et al. 2001b), Mus xp 1 aus Bananen (Musa x paradisiaca; Reindl et al. 2002), Ana c 1 aus Ananas (Ananas comosus; Reindl et al. 2002), Lit c 1 aus Litschi (Litchi chinensis; Reindl et al., unveröffentlicht), Dau c 4 aus Karotten (Daucus carota; Vieths et al. 2002b), Cap a 2 aus Paprika (Capsicum annuum; Fuchs et al. 2002), zwei Isoformen von Lyce 1 aus Tomaten (Lycopersicon esculentum; Fuchs et al. 2002; Westphal et al. 2003) und die Isoformen Pru p 4.0101 und Pru p 4.0201 aus Pfirsichen (Prunus persica; Rodríguez-Perez et al. 2003) sowie mehrere Isoformen des Latexallergens Hev b 8 (Hevea brasiliensis; Rihs et al. 2000; Ganglberger et al. 2001; Nieto et al. 2002). Trotz der weiten Verbreitung der Profiline bei fast allen Eukaryoten sind allergische Reaktionen also weitgehend auf pflanzliche Profiline beschränkt, und ein relativ hoher Anteil der Patienten, die für Profiline spezifische IgE-Antikörper besitzen, zeigen keine klinisch relevanten Symptome (Scheurer et al. 2001a).

Sowohl von Bet v 2 (Fedorov et al. 1997, PDB-Kennung 1CQA) als auch von Hev b 8.0204 (Fedorov et al., unveröffentlicht, PDB-Kennung 1G5U) konnte die dreidimensionale Struktur durch Röntgenkristallographie bestimmt werden. Die Tertiärstruktur dieser beiden allergenen Profiline ist weitgehend identisch mit der der Profiline aus anderen Organismen, unter anderem mit der des Profilins aus den Blutplättchen des Menschen (*Homo sapiens*) (Fedorov et al. 1997). Im Gegensatz zu den Profilinen aus verschiedenen Säugetierarten, die untereinander eine Sequenzidentität von etwa 90 % zeigen, und den Profilinen aus verscheidenen Pflanzenarten, die untereinander eine Sequenzidentität von etwa 200 % zeigen, und terscheiden 70 % und 80 % zeigen, unterscheiden sich die Sequenzen pflanzlicher Profiline allerdings recht deutlich von der der

Profiline der Säugetiere, so dass die Moleküloberfläche trotz der weitgehend identischen Tertiärstruktur durchaus größere Unterschiede aufweisen dürfte (zusammengefasst in Vieths et al. 2002a). Zusammen mit der Notwendigkeit der negativen Selektion von für menschliche Profiline spezifischen T- und B-Lymphozyten zur Vermeidung von Autoimmunerkrankungen (Janeway et al. 1999, Abschnitt 6-9 und 7-15) erklärt dies, warum praktisch nur pflanzliche Profiline als klinisch relevante Allergene beschrieben sind (siehe oben). Interessanterweise kreuzreagieren die für Bet v 2 spezifischen IgE-Antikörper mancher Patienten mit menschlichem Profilin (Valenta et al. 1991). Obwohl diese Kreuzreaktion recht schwach ist und daher normalerweise nicht zu einer schwerwiegenden Autoimmunerkrankung führt, könnte sie allergische Reaktionen auf Pollen-, Latex- oder Nahrungsmittelprofiline verstärken und außerdem die Ursache für die bei vielen Patienten unabhängig vom Pollenflug das ganze Jahr über fast gleichbleibende Konzentration an profilinspezifischen IgE-Antikörpern darstellen (Valenta et al. 1991; zusammengefasst in Vieths et al. 2002a).

## 1.2.3 Bet v 3

Etwa 10 % der auf Birkenpollen allergischen Patienten besitzen IgE-Antikörper gegen das aus 203 Aminosäuren aufgebaute Nebenallergen Bet v 3 mit einer relativen Molekülmasse von etwa 23,7 kDa, dessen mRNA ausschließlich in reifen Pollen nachgewiesen werden konnte (Seiberler et al. 1992; Seiberler et al. 1994). Die Aminosäuresequenz von Bet v 3 enthält vier so genannte EF-Hand-Motive. Diese aus zwei  $\alpha$ -Helices verbunden durch eine meist sechs Reste lange hochkonservierte Verbindungsschleife mit einem meist drei Reste langen kurzen β-Faltblattstrang am Ende bestehenden Strukturelemente wurden erstmals in der Kristallstruktur von Parvalbumin aus den Muskeln von Karpfen (Cyprinus carpio) beobachtet (Kretsinger und Nockolds 1973; Moews und Kretsinger 1975; Swain et al. 1989, PDB-Kennung 5CPV; Kumar et al. 1990, PDB-Kennung 4CPV), das übrigens ein Nahrungsmittelallergen darstellt (Bugajska-Schretter et al. 1998) und von dessen α-Helices E und F sich der Name EF-Hand ableitet (Kretsinger und Nockolds 1973), und seither in einer Reihe weiterer calciumbindender Proteine gefunden (zusammengefasst in Strynadka und James 1989; Ikura 1996; Lewit-Bentley und Réty 2000; The EF-Hand Calcium-Binding Proteins Data Library, URL: http:// //structbio.vanderbilt.edu/cabp\_database). EF-Hände liegen in aller Regel als ein durch ein von den beiden kurzen β-Faltblattsträngen gebildetes antiparalleles β-Faltblatt verbundenes EF-Hand-Paar vor und dienen zur Bindung jeweils eines zweiwertigen Kations, vor allem Ca2+ und/oder Mg2+. Mg2+-Ionen werden dabei meist durch sechs Sauerstoffliganden oktaedrisch ligiert, zur Bindung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen hingegen dienen wie in Abb. 1.8 dargestellt meist fünf Sauerstoffatome von Carboxylat- oder Carboxamid-Seitenketten an den Sequenzpositionen 1 (1 Sauerstoffatom, Ligandenposition x), 3 (1, y) und 5 (1, z) der Verbindungsschleife sowie 3 der zweiten α-Helix (2, -z), die Carbonylgruppe des Proteinrückgrats an der Sequenzposition 1 des kurzen β-Faltblattstrangs (1, -y) und ein Wassermolekül (1, -x) an den Ecken einer pentagonalen Bipyramide (zusammengefasst in Strynadka und James 1989; Lewit-Bentley und Réty 2000). Diese an der Ligation der Ca<sup>2+</sup>-Ionen beteiligten Carboxylat- oder Carboxamid-Seitenketten fehlen der zweiten der vier EF-Hände von Bet v 3 jedoch weitgehend, so dass lediglich die anderen drei EF-Hände von Bet v 3 jeweils ein Ca<sup>2+</sup>-Ion binden können (Seiberler et al. 1994).



Abb. 1.8 Symbolische Darstellung des EF-Hand-Motivs (a) und Geometrie der Ligation der Ca<sup>2+</sup>-Ionen (b). Die erste  $\alpha$ -Helix E windet sich den Zeigefinger hinunter, die Verbindungsschleife läuft in etwa den Mittelfinger entlang und die zweite  $\alpha$ -Helix F windet sich den Daumen herauf. Bei regulatorischen EF-Hand-Proteinen bewirkt die Bindung eines Ca<sup>2+</sup>-Ions eine Reorientierung der beiden  $\alpha$ -Helices zueinander von der fast antiparallelen so genannten geschlossenen Form des apo-Proteins (grau) zur fast senkrechten so genannten offenen Form des holo-Proteins (schwarz). Die Ligation der Ca<sup>2+</sup>-Ionen (große Kugel) erfolgt durch jeweils sechs Sauerstoffatome des Proteins (Stäbchen-Darstellung mit hellgrauen C-Atomen, schwarzen N-Atomen und dunkelgrauen O-Atomen) und ein Wassermolekül (kleine Kugel) an den Ecken einer pentagonalen Bipyramide. Die Ligandenposition entlang der Aminosäuresequenz beginnend mit dem ersten Rest der Verbindungsschleife ist dabei gegeben durch (x)\*(y)\*(z)\*(-y)\*\*\*\*(-z) (jeder Stern steht für eine weitere Aminosäure), das Wassermolekül besetzt die Ligandenposition -x. Aus Lewit-Bentley und Réty (2000) mit freundlicher Genehmigung von Elsevier Science. Die mittlerweile mindestens 66 bekannten Subfamilien von EF-Hand-Proteinen mit über 200 Proteinen lassen sich in solche mit einer regulatorischen Funktion wie beispielsweise Calmodulin, Troponin C oder die S100-Proteine einerseits und mit einer Ionenspeicherfunktion wie beispielsweise Parvalbumin oder Calbindin D<sub>9k</sub> (früher Vitamin D-Dependent Intestinal Calcium-Binding Protein, ICaBP) and ererseits einteilen (zusammengefasst in Strynadka und James 1989; Ikura 1996; Lewit-Bentley und Réty 2000). Bei EF-Hand-Proteinen mit einer regulatorischen Funktion bewirkt die Bindung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen wie in Abb. 1.8 dargestellt eine Reorientierung der beiden α-Helices einer EF-Hand zueinander von der fast antiparallelen so genannten geschlossenen Form des apo-Proteins zur fast senkrechten so genannten offenen Form des holo-Proteins, wodurch eine hydrophobe Furche auf der Moleküloberfläche exponiert wird, die an die meist α-helikalen Zielpeptide bindet und dadurch ein von der Ca<sup>2+</sup>-Konzentration gesteuertes Signal aussendet (zusammengefasst in Strynadka und James 1989; Strynadka und James 1991; da Silva und Reinach 1991; Ikura 1996; Yap et al. 1999; Lewit-Bentley und Réty 2000). Daher wird zur Charakterisierung von EF-Händen meist der nach dem Algorithmus von Kuboniwa et al. (1995) berechnete Winkel zwischen den beiden  $\alpha$ -Helices herangezogen, der bei Calmodulin in der geschlossenen Konformation des apo-Proteins etwa 130° (Zhang et al. 1995, PDB-Kennung 1DMO; Kuboniwa et al. 1995, PDB-Kennungen 1CFC und 1CFD; Finn et al. 1995, PDB-Kennung 1CMF; Chou et al. 2000, PDB-Kennungen 1F70 und 1F71; Ishida et al. 2002, PDB-Kennung 1LKJ) und in der offenen Form des holo-Proteins etwa 100° (Babu et al. 1985, PDB-Kennung 3CLN; Taylor et al. 1991, PDB-Kennung 4CLN; Chattopadhyaya et al. 1992, PDB-Kennung 1CLL; Rao et al. 1993, PDB-Kennung 1CLM; Ban et al. 1994, PDB-Kennung 1OSA; Finn et al. 1995, PDB-Kennung 1CMG; Wilson und Brünger 2000, PDB-Kennung 1EXR; Olsson und Sjölin 2001, PDB-Kennung 1FW4; Chou et al. 2001, PDB-Kennungen 1J7O und 1J7P) beträgt (für eine umfangreiche Zusammenstellung der Winkel zwischen den beiden α-Helices von EF-Händen bekannter dreidimensionaler Struktur siehe The EF-Hand Calcium-Binding Proteins Data Library, URL: http://structbio.vanderbilt.edu/cabp\_database). Bei Calbindin D<sub>9k</sub> hingegen, einem EF-Hand-Protein mit vermutlich einer Ionenspeicherfunktion, fällt die durch die Bindung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen hervorgerufene Konformationsänderung mit einer Änderung der Winkel zwischen den beiden α-Helices jeder der beiden EF-Hände von weniger als 15° wesentlich geringer aus (apo-Form: Skelton et al. 1994, PDB-Kennung 1CLB; holo-Form: Szebenyi et al. 1981; Szebenyi und Moffat 1986, PDB-Kennung 3ICB; Svensson et al. 1992, PDB-Kennung 4ICB; Akke et al. 1992, PDB-Kennung 1CB1; Kördel et al. 1993, PDB-Kennungen 2BCA und

2BCB; Kördel et al. 1997, PDB-Kennung 1B1G; zusammengefasst in Ikura 1996; Yap et al. 1999).

Die physiologische Funktion, die Bet v 3 in Birkenpollen erfüllt, ist noch unklar. Da der Entzug von Ca<sup>2+</sup>-Ionen durch EGTA einen reversiblen, praktisch vollständigen Verlust der IgE-Reaktivität von Bet v 3 zur Folge hatte, wohingegen bereits gebundene IgE-Antikörper auch bei Inkubation mit EGTA ihre Bindung noch aufrechterhalten konnten (Seiberler et al. 1992; Seiberler et al. 1994), dürfte die Bindung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen bei Bet v 3 eine deutliche, reversible, durch die Bindung von IgE-Antikörpern zu verhindernde Konformationsänderung verursachen, was eher auf eine regulatorische Funktion denn auf eine Ionenspeicherfunktion hindeutet. Neben Bet v 3 sind noch eine Reihe weiterer allergener EF-Hand-Proteine bekannt, die sich auf Grund ihrer Sequenzidentität und hier insbesondere der Anzahl der EF-Hände in mehrere Familien einteilen lassen, wobei Bet v 3 bisher alleine eine eigene Familie darstellt (zusammengefasst in Valenta et al. 1998). Da sich die Sequenzidentität zwischen verschiedenen Familien weitgehend auf die EF-Hand-Motive selbst beschränkt und da B-Lymphozyten, die gegen die ja auch in vielen menschlichen Proteinen hochkonservierten EF-Hand-Motive selbst gerichtete IgE-Antikörper produzieren, zur Verhinderung von Autoimmunerkrankungen im Rahmen der negativen Selektion im Kochenmark weitestgehend zur Anergie oder Apoptose angeregt werden dürften (Janeway et al. 1999, Abschnitt 6-9), wurden IgE-Kreuzreaktionen ursprünglich nur innerhalb einer solchen Familie vermutet (zusammengefasst in Valenta et al. 1998). In zwei vor kurzem durchgeführten Studien zeigte sich jedoch, dass die Inhibition der Bindung der IgE-Antikörper aus dem Serum von Pollenallergikern sowohl an Bet v 3 als auch an das aus vier Ca<sup>2+</sup>-bindenden EF-Händen bestehende Jun o 4 (früher Jun o 2) aus Pollen des Baumwacholders (Juniperus oxycedrus; Tinghino et al. 1998) in IgE-ELISA-Inhibitionstests durch Präinkubation mit den Polcalcinen Aln g 4 und Phl p 7 (siehe Abschnitt 1.2.4) deutlich effektiver war als durch Präinkubation mit Bet v 3 bzw. Jun o 4 selbst (Tinghino et al. 2002) sowie dass die Inhibition der Bindung der IgE-Antikörper aus dem Serum von Olivenpollenallergikern an das aus vier Ca<sup>2+</sup>-bindenden EF-Händen bestehende Ole e 8 aus Pollen des Ölbaums (Olea europaea; Ledesma et al. 2000) durch Präinkubation mit dem Polcalcin Ole e 3 (siehe Abschnitt 1.2.4) ebenfalls deutlich effektiver war als durch Präinkubation mit Ole e 8 selbst (Ledesma et al. 2002), so dass die IgE-Reaktivität von Bet v 3, Jun o 4 und Ole e 8 möglicherweise ähnlich wie bei den mit Bet v 1 verwandten Nahrungsmittelallergenen (Abschnitt 1.2.1.3) lediglich die Folge einer Kreuzreaktivität nach einer Sensibilisierung auf Polcalcine darstellt.

## 1.2.4 Bet v 4 und verwandte Allergene

Zu einer dieser Familien von allergenen EF-Hand-Proteinen gehört auch das aus zwei EF-Händen mit insgesamt 84 Aminosäuren aufgebaute Nebenallergen Bet v 4 mit einer relativen Molekülmasse von etwa 9,4 kDa, gegen das etwa 5 % bis 20 % der auf Birkenpollen allergischen Patienten IgE-Antikörper besitzen (Engel et al. 1997; Twardosz et al. 1997). Das in dieser Arbeit verwendete rekombinante Bet v 4 wurde auf der Grundlage der von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. F. Ferreira isolierten cDNA (Engel et al. 1997) hergestellt (Abschnitt 3.1.1; Nerkamp 2002, Abschnitt 3.2.2). Die von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. R. Valenta isolierte cDNA (Twardosz et al. 1997) unterscheidet sich davon durch zwei veränderte Basenpaare, von denen lediglich eines die Bedeutung des betroffenen Codons verändert, was zu ei-Alanin anstelle Sequenzposition 70 nem eines Glycins an führt. Aus massenspektroskopischen Untersuchungen ist bekannt, dass als einzige posttranslationale Modifikation neben der Ionenbindung das NH2-terminale Methionin des ursprünglich aus 85 Aminosäuren bestehenden rekombinanten Bet v 4 abgespalten wird (Engel et al. 1997), so dass seine Resonanzen auch in den im Rahmen dieser Arbeit verwendeten NMR-Spektren (Tab. 3.1) nicht beobachtet wurden (Abschnitt 4.6.1). Alle Angaben zur Sequenzposition in dieser Arbeit beziehen sich daher auf das aus 84 Aminosäuren aufgebaute posttranslational modifizierte Protein.

Neben Bet v 4 gehören auch Aln g 4 aus Pollen der Schwarzerle (Alnus glutinosa; Hayek et al. 1998), Ole e 3 aus Pollen des Ölbaums (Olea europaea; Batanero et al. 1996; Ledesma et al. 1998), Syr v 3 aus Pollen des Flieders (Syringa vulgaris; Ledesma et al., unveröffentlicht), Bran 1 oder BPC1 und Bran 2 aus Pollen des Rapses (Brassica napus) sowie Brar 1 und Brar 2 aus Pollen des Rübsens (Brassica rapa) (Toriyama et al. 1995; Okada et al. 1998; Focke et al. 1998; Rozwadowski et al. 1999), Phl p 7 aus Pollen des Wiesenlischgrases (Phleum pratense; Niederberger et al. 1999) und Cyn d 7 aus Pollen des Bermudagrases (Cynodon dactylon; Smith et al. 1997; Suphioglu et al. 1997) zu dieser als Polcalcin-Familie (zusammengesetzt aus den beiden Wörtern Pollen und Calcium, Ledesma et al. 1998) bezeichneten Familie von aus zwei EF-Händen bestehenden Ca<sup>2+</sup>-bindenden Pollenallergenen mit relativen Molekülmassen um 9 kDa und leicht sauren berechneten isoelektrischen Punkten von zwischen 4 und 5 (zusammengefasst in Valenta et al. 1998). Aln g 4, Syr v 3, Bra n 1 oder BPC1, Bra n 2, Bra r 1, Bra r 2 und Phl p 7 sind jedoch ebenso wie das Polcalcin APC1 aus Pollen der Ackerschmalwand (Arabidopsis thaliana; Rozwadowski et al. 1999) vom Allergen Nomenclature Sub-Committee der IUIS bisher (Stand: 2. 3. 2003) nicht offiziell als Allergene beschrieben und im Fall von Bran 1 und Brar 2 besteht sogar ein Bezeichnungskonflikt mit zwei nicht zur Polcalcin-Familie gehörenden Allergenen (King et al. 1994, URL: http://www.allergen.org). Obwohl diese Polcalcine damit sowohl aus Pflanzen der Klasse Monocotyledonae als auch der Klasse Eudicotyledonae isoliert werden konnten, zeigen sie mit mindestens 68 % allesamt eine sehr hohe Sequenzidentität mit Bet v 4 (Abb. 1.9). Dementsprechend verliefen praktisch alle durchgeführten Tests auf IgE-Kreuzreaktivität zwischen jeweils zwei Allergenen der Polcalcin-Familie positiv (Batanero et al. 1996; Smith et al. 1997; Suphioglu et al. 1997; Engel et al. 1997; Twardosz et al. 1997; Focke et al. 1998; Hayek et al. 1998; Niederberger et al. 1999), so dass die Polcalcine möglicherweise so genannte Panallergene darstellen (zusammengefasst in Valenta et al. 1998). Die mRNA der Polcalcine und die Polcalcine selbst konnten bisher allerdings ausschließlich in den Pollenstaubbeuteln und Pollen nachgewiesen werden (Toriyama et al. 1995; Smith et al. 1997; Suphioglu et al. 1997; Engel et al. 1997; Ledesma et al. 1998; Focke et al. 1998; Niederberger et al. 1999; Rozwadowski et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000), so dass sich darunter keine Nahrungsmittelallergene befinden. Da die Bestäubung von Raps (Brassica napus) und Rübsen (Brassica rapa) vorwiegend von Insekten und weniger vom Wind vorgenommen wird, beschränkt sich die klinische Relevanz allergischer Reaktionen auf Bran 1 oder BPC1, Bra n 2, Bra r 1 und/oder Bra r 2 im Gegensatz zu den anderen Polcalcinen weitgehend auf beruflich pollenexponierte Personen (Toriyama et al. 1995; Engel et al. 1997). Zwar besitzt wie bereits erwähnt nur eine Minderheit der Pollenallergiker IgE-Antikörper gegen die Polcalcine, bei diesen Patienten jedoch entfalten die Polcalcine eine beachtliche allergische Aktivität, wie sich beispielsweise in der Ausschüttung von Histamin aus menschlichen Basophilen im Reagenzglas und in Hautreaktionstests zeigt (Hayek et al. 1998; Niederberger et al. 1999).



Abb. 1.9 Strukturbasiertes Sequenzalignment mit Bet v 4 von Aln g 4 (89,3 % Sequenzidentität mit Bet v 4), Ole e 3 (79,5 %), Syr v 3 (77,5 %), Bra n 1 (74,4 %), Bra n 2 (73,2 %), Phl p 7 (68,8 %) und Cyn d 7 (68,4 %). Bra r 1 ist identisch mit Bra n 1 und Bra r 2 mit Bra n 1. Die über den Sequenzen angegebenen Sequenzpositionen beziehen sich auf Bet v 4, das NH<sub>2</sub>-terminale Methionin wurde jeweils nicht berücksichtigt (siehe oben; Engel et al. 1997; Ledesma et al. 1998). Lücken im Alignment sind durch Punkte markiert. Bei mindestens 5 der 8 Allergene konservierte Reste sind grau hinterlegt, bei allen 8 Allergenen konservierte Reste schwarz. Die Sekundärstrukturelemente sowie die Ca<sup>2+</sup>-bindenden Verbindungsschleifen der beiden EF-Hände von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) sind unter dem Alignment dargestellt und sind identisch mit denen von holo Phl p 7, außer dass die NH<sub>2</sub>-terminale Helix α<sub>1</sub> bei holo Phl p 7 erst bei Asp 2 entsprechend Ala 9 von Bet v 4 beginnt (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U). Das Alignment wurde manuell erstellt und mit ALSCRIPT (Barton 1993) formatiert.

Die physiologische Funktion ist auch bei den Polcalcinen noch unklar. Zwar nimmt auch die Bindung der IgE-Antikörper vieler Patienten an die Polcalcine wie schon bei Bet v 3 (Abschnitt 1.2.3) bei Entzug von Ca<sup>2+</sup>-Ionen zum Teil deutlich ab (Smith et al. 1997; Suphioglu et al. 1997; Engel et al. 1997; Twardosz et al. 1997; Okada et al. 1998; Hayek et al. 1998; Niederberger et al. 1999; Ledesma et al. 2002), allerdings binden die IgE-Antikörper anderer Patienten die apo-Form genauso stark (Engel et al. 1997; Okada et al. 1998; Ledesma et al. 2002) und in seltenen Fällen sogar noch stärker (Niederberger et al. 1999) als die holo-Form. Außerdem vergrößert der Entzug von Ca<sup>2+</sup>-Ionen den effektiven hydrodynamischen Radius der Polcalcine in Gelelektrophorese- (Engel et al. 1997; Rozwadowski et al. 1999), Gelfiltrations- (Rozwadowski et al. 1999) und Größenausschlusschromatographie-Experimenten (Verdino et al. 2002) reversibel. Die Mg<sup>2+</sup>-Konzentration zeigte im Gegensatz zur Ca<sup>2+</sup>-Konzentration keinen Einfluss auf die Mobilität der Polcalcine in diesen Experimenten (Engel et al. 1997; Rozwadowski et al. 1999), d. h. die beiden EF-Hände der Polcalcine, die wie Mutationsexperimente zeigen alle beide an der Ca<sup>2+</sup>-Bindung beteiligt sind (Engel et al. 1997; Okada et al. 1998), scheinen also eine gewisse Spezifität für Ca<sup>2+</sup>-Ionen zu besitzen. Des Weiteren beobachtet man in den CD-Spektren der Polcalcine eine scheinbare Abnahme der Helizität bei Entzug von Ca<sup>2+</sup>-Ionen (Engel et al. 1997; Nerkamp 2002, Abschnitt 4.2.2; Hayek et al. 1998; Ledesma et al. 1998; Ledesma et al. 2002; Niederberger et al. 1999), was jedoch nicht automatisch als Verlust an α-helikaler Sekundärstruktur interpretiert werden kann, da der gleiche

38

Effekt auch bei Calmodulin beobachtet wurde, dessen Sekundärstruktur nicht vom Ca<sup>2+</sup>-Bindungszustand abhängt, und daher von einer veränderten Dynamik, einem veränderten Beitrag der aromatischen Seitenkettenchromophoren oder einer veränderten relativen Orientierung der α-Helices verursacht werden dürfte (Finn et al. 1995; Engel et al. 1997). Während die apo-Formen von Bet v 4, Aln g 4 und Phl p 7 in diesen CD-spektroskopischen Untersuchungen einen reversiblen thermischen Übergang bei Mittelpunktstemperaturen von  $T_m \approx 320 K$ (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.2.3),  $T_m \approx 324 K$  (Hayek et al. 1998) bzw.  $T_m \approx 345 K$ (Niederberger et al. 1999) zeigten, sind ihre holo-Formen so thermostabil, dass jeweils bis zum Kochpunkt des Lösungsmittels keine vollständige Denaturierung beobachtet wurde. Diese Befunde weisen auch für die Polcalcine wie schon bei Bet v 3 (Abschnitt 1.2.3) auf eine deutliche reversible Konformationsänderung bei Bindung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen und damit eher auf eine regulatorische denn auf eine Ionenspeicherfunktion hin, zumal die Polcalcine auch eine etwas höhere Sequenzidentität zu EF-Hand-Proteinen mit einer regulatorischen Funktion wie Calmodulin und Troponin C zeigen als zu solchen mit einer Ionenspeicherfunktion wie Parvalbumin oder Calbindin D<sub>9k</sub> (Abb. 1.10). Wegen der reduzierten IgE-Reaktivität der apo-Formen der Polcalcine bei den meisten Patienten wurde bereits mehrfach vorgeschlagen, Mutanten mit durch Punktmutation der an der Ca<sup>2+</sup>-Ligation beteiligten Seitenketten zerstörter Ca<sup>2+</sup>-Bindungsfähigkeit als Impstoffe für die spezifische Immuntherapie zu verwenden, um die anaphylaktischen Nebenwirkungen zu reduzieren (Okada et al. 1998; Hayek et al. 1998; Valenta et al. 1998; Niederberger et al. 1999; Verdino et al. 2002).



Abb. 1.10 Strukturbasiertes Sequenzalignment mit Bet v 4 von Phl p 7 (68,8 % Sequenzidentität mit Bet v 4), der NH2-terminalen (36,6 %) sowie der COOH-terminalen (41,5 %) Domäne von Calmodulin aus dem Menschen (Homo sapiens), der NH2-terminalen (35,5 %) sowie der COOHterminalen (34,3 %) Domäne von Troponin C aus dem Huhn (Gallus gallus), Parvalbumin aus dem Karpfen (Cyprinus carpio; 27,8 %) und Calbindin D<sub>9k</sub> aus dem Rind (Bos taurus; 27,4 %). Bei den Domänen von Calmodulin und Troponin C wurden jeweils die Reste der verbindenden α-Helix noch berücksichtigt, die auch bei Ligandenbindung ihre  $\alpha$ -helikale Struktur behalten (Ikura et al. 1992, PDB-Kennungen 2BBM und 2BBN; Vassylvev et al. 1998, PDB-Kennung 1A2X). Die über den Sequenzen angegebenen Sequenzpositionen beziehen sich auf Bet v 4, das NH<sub>2</sub>-terminale Methionin wurde jeweils nicht berücksichtigt (siehe oben; Engel et al. 1997; Ledesma et al. 1998). Lücken im Alignment sind durch Punkte markiert. Bei mindestens 5 der 8 Domänen konservierte Reste sind grau hinterlegt, bei allen 8 Domänen konservierte Reste schwarz. Die an der Ca<sup>2+</sup>-Ligation beteiligten Reste sind durch ein O unter dem Alignment markiert (vgl. Abb. 1.8). Die Sekundärstrukturelemente sowie die Ca2+-bindenden Verbindungsschleifen der beiden EF-Hände von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) sind unter dem Alignment dargestellt und sind identisch mit denen von holo Phl p 7, außer dass die NH<sub>2</sub>-terminale Helix  $\alpha_1$  bei holo Phl p 7 erst bei Asp 2 entsprechend Ala 9 von Bet v 4 beginnt (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U). Troponin C besitzt am NH<sub>2</sub>-Terminus eine zusätzliche α-Helix (Herzberg und James 1985; Herzberg und James 1988, PDB-Kennung 5TNC; Sundaralingam et al. 1985; Satyshur et al. 1988, PDB-Kennung 4TNC; Satyshur et al. 1994, PDB-Kennung 1TOP), Parvalbumin sogar eine zusätzliche EF-Hand, die jedoch keine Ca<sup>2+</sup>-Ionen bindet (Kretsinger und Nockolds 1973; Moews und Kretsinger 1975; Swain et al. 1989, PDB-Kennung 5CPV; Kumar et al. 1990, PDB-Kennung 4CPV). Die Länge der die beiden EF-Hände, d. h. die beiden Helices  $\alpha_2$  und  $\alpha_3$ , verbindenden Schleife variiert. Die Ca<sup>2+</sup>bindende Verbindungsschleife der ersten EF-Hand von Calbindin D<sub>9k</sub> enthält zwei zusätzliche Reste im Vergleich zu der kanonischer EF-Hände (Abb. 1.8), so dass die Carbonylgruppen des Proteinrückgrats von Ala 17, Glu 20 und Asp 21 die Ca<sup>2+</sup>-Ligation an den Ligandenpositionen x, y und z übernehmen (Szebenyi et al. 1981; Szebenyi und Moffat 1986, PDB-Kennung 3ICB; Svensson et al. 1992, PDB-Kennung 4ICB; Akke et al. 1992, PDB-Kennung 1CB1; Kördel et al. 1993, PDB-Kennungen 2BCA und 2BCB; Kördel et al. 1997, PDB-Kennung 1B1G). Das Alignment wurde manuell erstellt und mit ALSCRIPT (Barton 1993) formatiert.

Die bereits angesprochene weite Verbreitung der Polcalcine im Pflanzenreich bei außerordentlich hoher Konserviertheit der Sequenz und ihre gewebespezifische Expression in Pollenstaubbeuteln und Pollen (siehe oben), die zu einer Anreicherung der Polcalcine während der Reifung der Pollen führt (Toriyama et al. 1995; Rozwadowski et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000) und auch in den Pollenschläuchen selbst noch stattfinden dürfte (Okada et al. 2000), deuten auf eine wichtige Funktion bei der Pollenkeimung und/oder dem Pollenschlauchwachstum hin. Die aus einem einzelnen Exon bestehenden (Rozwadowski et al. 1999; Okada et al. 2000) für die Polcalcine codierenden Gene bilden eine kleine Multigenfamilie mit vermutlich zwei Genen pro haploidem Chromosomensatz (Smith et al. 1997; Rozwadowski et al. 1999; man beachte, dass Brassica napus als Kreuzung von Brassica rapa mit zehn Chromosomen und Brassica oleracea mit neun Chromosomen amphidiploid ist, Okada et al. 2000). Im Fall der Ackerschmalwand (Arabidopsis thaliana), deren Genom bereits vollständig sequenziert wurde, befindet sich das für APC1 (Rozwadowski et al. 1999) codierende Gen auf Chromosom 5 (Tabata et al. 2000) sowie ein für ein zu 89,1 % mit APC1 und zu 100,0 % mit Brar 2 identisches Polcalcin codierendes Gen auf Chromosom 3 (Salanoubat et al. 2000). Interessanterweise jedoch zeigten Brar 1 und Brar 2 das gleiche räumliche und zeitliche Expressionsmuster (Okada et al. 1999). Daher ist nicht ganz klar, ob die beiden Polcalcine pro haploidem Chromosomensatz tatsächlich unterschiedlich reguliert werden und/oder eine unterschiedliche, miteinander verwandte physiologische Funktion ausführen. Da die für die Polcalcine codierenden Gene nicht mit den für die S-Glykoproteine codierenden Genen verbunden sind (Rozwadowski et al. 1999; Okada et al. 1999) und da keine Unterschiede des Expressionsmusters der Polcalcine zwischen selbstkompatiblen und selbstinkompatiblen Linien von Raps (Brassica napus) festgestellt werden konnten (Rozwadowski et al. 1999), scheinen die Polcalcine keine entscheidende Rolle bei der Blockade des Wachstums der Pollenschläuche bei Selbstbestäubung (vgl. Abschnitt 1.2.1.4) zu spielen.

Deutlich wahrscheinlicher ist ein Zusammenhang der physiologischen Funktion der Polcalcine mit dem die Wachstumsrichtung angebenden Ca<sup>2+</sup>-Konzentrationsgradienten in den Pollenschläuchen (Suphioglu et al. 1997; Engel et al. 1997; Valenta et al. 1998; Niederberger et al. 1999; Rozwadowski et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000; Verdino et al. 2002), da licht- und elektronenmikroskopisch eine einigermaßen gleichmäßige Verteilung von Bran 1 oder BPC1 und Brar 1 über die Pollenschläuche selbst mit einer deutlichen Anreicherung an deren Spitze festgestellt wurde (Rozwadowski et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000). Allerdings ist wegen der Abhängigkeit der Affinität der zur Markierung verwendeten polyklonalen IgG-Antikörper vom Ca<sup>2+</sup>-Bindungszustand der Polcalcine (Okada et al. 1998) meiner Meinung nach nicht vollständig auszuschließen, dass diese scheinbare Anreicherung zumindest teilweise auch die Folge einer stärkeren Bindung dieser Antikörper an die Polcalcine an der Spitze der Pollenschläuche sein könnte, wo die Ca<sup>2+</sup>-Konzentration am höchsten ist. Wie die fehlenden Signalpeptidsequenzen der Polcalcine bereits vermuten lassen, befinden sich die Polcalcine nach den Ergebnissen licht- und elektronenmikroskopischer Untersuchungen zunächst vor allem im Zytosol der Pollen und Pollenschläuche (Rozwadowski et al. 1999; Grote et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000), aber auch in den Vesikeln und Zisternen des Endoplasmatischen Reticulums, den Mitochondrien, den

Zellwänden sowie dem vegetativen und dem generativen Zellkern (Grote et al. 1999). Bei Hydrierung der Pollen, sei es im Rahmen der Pollenkeimung auf der Narbe oder im Rahmen einer allergischen Reaktion auf den Nasenschleimhäuten eines Pollenallergikers, werden die Polcalcine dann innerhalb von Sekunden bis weniger Minuten, also noch schneller als Bet v 1 (Abschnitt 1.2.1.4) und Bet v 2 (Abschnitt 1.2.2), praktisch vollständig durch die Zellwände aus dem Zytosol ausgewaschen (Batanero et al. 1996; Engel et al. 1997; Niederberger et al. 1999; Rozwadowski et al. 1999; Grote et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000). Dies erklärt natürlich zunächst einmal wie schon bei Bet v 1 und Bet v 2 die Allergenizität eigentlich intrazellulärer Pollenproteine wie der Polcalcine. Was die physiologische Funktion der Polcalcine anbetrifft, so stoppte die Injektion von Bet v 4 in im Reagenzglas wachsende Lilienpollenschläuche, auf die in Ermangelung eines im Reagenzglas durchführbaren Keimungsverfahren für Birkenpollen ersatzweise zurückgegriffen wurde, im Gegensatz zu Mutanten von Bet v 4 mit zerstörter Ca<sup>2+</sup>-Bindungsfähigkeit in etwa 30 % der Experimente die zytoplasmatische Strömung in der Nähe der Injektionsstelle, und außerdem wurde eine geringfügige Depolarisation der Plasmamembran gemessen (Engel et al. 1997). Daher wurde vorgeschlagen, die vermutlich regulatorische Funktion der Polcalcine könnte eine Inhibtion des Pollenschlauchwachstums verursachen, welche durch die Auswaschung der Polcalcine im Rahmen der Pollenkeimung deaktiviert wird (Engel et al. 1997), was allerdings nicht besonders gut zu der hohen Konzentration der Polcalcine an der Spitze der Pollenschläuche (siehe oben) passt. Alternativ könnte die schnelle Auswaschung beispielsweise auch einen der Regulationsmechanismen der wie oben beschrieben für die Pollenkeimung und das Ca<sup>2+</sup>-Konzentration wichtigen Pollenschlauchwachstum und/oder der dadurch hervorgerufenen metabolischen Veränderungen darstellen (Niederberger et al. 1999; Rozwadowski et al. 1999; Grote et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000), und/oder eine von den Polcalcinen vermittelte hypothetische Signaltransduktion von den Pollen in den Stempel initiieren (Rozwadowski et al. 1999; Okada et al. 1999; Okada et al. 2000).

Im Rahmen seiner Dissertation konnte J. Nerkamp (2002) anhand einiger mehrdimensionaler NMR-Spektren von unmarkiertem und [U - 98 % <sup>15</sup>N]-markiertem holo Bet v 4 bereits fast alle Amidresonanzen des Proteinrückgrats und eine Reihe aliphatischer und aromatischer <sup>1</sup>H-Seitenkettenresonanzen von holo Bet v 4 sequenzspezifisch zuordnen (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.4.4) und auf dieser Grundlage 737 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen, 44 Diederwinkelbeschränkungen aus <sup>3</sup>J<sub>HN H α</sub>-Kopplungskonstanten und 32 Abstandsbeschränkungen aus der Identifizierung von 16 Wasserstoffbrücken ableiten, die für eine erste Strukturberechnung ausreichten (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.5). Daraus ergab sich,

dass die beiden EF-Hände von holo Bet v 4 in Lösung ein kanonisches EF-Hand-Paar in offener Konformation bilden. Der innerhalb der Polcalcin-Familie hochkonservierte COOHterminale Bereich (Abb. 1.9), durch den sich die Polcalcine von anderen EF-Hand-Proteinen abheben (Abb. 1.10), bildet eine amphipatische  $\alpha$ -Helix, deren genaue Position und Orientierung relativ zu den beiden EF-Händen jedoch nicht bestimmt werden konnte (Nerkamp 2002, Abschnitt 5.6). Die Unvollständigkeit und Unsicherheit der sequenzspezifischen Zuordnung der Resonanzen, vor allem im NH2-terminalen Bereich und bei den aliphatischen und insbesondere auch den aromatischen Seitenketten, erschwerte allerdings die Suche nach weiteren experimentellen Randbedingungen erheblich und machte daher die Durchführung weiterer NMR-Experimente für eine wirklich hochaufgelöste dreidimensionale Struktur von holo Bet v 4 in Lösung notwendig, insbesondere für eine Präzisierung der Konformation des NH<sub>2</sub>-terminalen Bereichs sowie der Helix  $\alpha_2$  und der darauf folgenden die beiden EF-Hände verbindenden Schleife, der Koordination der beiden Ca<sup>2+</sup>-Ionen, der cis-/trans-Isomerie der beiden Prolin-Reste und der Lage und Orientierung der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$ .

Etwa zur gleichen Zeit konnte die Kristallstruktur von holo Phl p 7 bestimmt werden (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U), die eine völlig unerwartete dimere Quartärstruktur zeigte, bei der die Paarung der beiden EF-Hände (Abschnitt 1.2.3) intermolekular stattfindet (Abb. 4.45) und nicht intramolekular wie bei anderen EF-Hand-Proteinen wie beispielsweise Parvalbumin, Calmodulin, Troponin C oder Calbindin D<sub>9k</sub> (Abschnitt 4.7.7). Eine solche als Domain Swapping bezeichnete Substitution einer intramolekularen Wechselwirkung durch die äquivalente intermolekulare Wechselwirkung im Rahmen einer Oligomerisierung war bei EF-Hand-Proteinen zu diesem Zeitpunkt lediglich von holo Calbindin D<sub>9k</sub> bekannt, wo sie jedoch durch eine Punktmutation in der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife künstlich erzeugt werden musste und durch Erhitzen rückgängig gemacht werden konnte (Håkansson et al. 2001, PDB-Kennung 1HT9). Dieses überraschende Ergebnis machte die Bestimmung der für einen detaillierten Vergleich unabdingbaren wirklich hochaufgelösten und zuverlässigen dreidimensionalen Struktur von holo Bet v 4 besonders interessant.

#### 1.2.5 Bet v 6 und verwandte Allergene

Etwa 12 % der auf Birkenpollen allergischen Patienten besitzen IgE-Antikörper gegen das Nebenallergen Bet v 6 (früher Bet v 5; Vieths et al. 1998; Karamloo et al. 1999; Karamloo et al. 2001b). Die Aminosäuresequenz der Variante Bet v 6.0101 (Karamloo et al. 1999) ist iden-

tisch mit der der anderen bekannten Variante Bet v 6.0102 (Karamloo et al. 2001b), allerdings am COOH-Terminus um acht Aminosäuren kürzer (Abb. 1.11). Für Bet v 6 spezifische IgE-Antikörper aus dem Serum von Birkenpollenallergikern kreuzreagieren nicht nur mit Pollen anderer Pflanzenarten (Karamloo et al. 2001b), sondern auch mit verwandten Allergenen aus einer ganzen Reihe von Obst- und Gemüsesorten (Vieths et al. 1998; Karamloo et al. 1999; Karamloo et al. 2001b), insbesondere mit Pyr c 5 aus Birnen (Pyrus communis; Karamloo et al. 2001b). Aus den Pollen der Japanischen Sicheltanne (Cryptomeria japonica) wurde vor kurzem das mit Bet v 6 verwandte Hauptallergen CJP-6 isoliert, gegen das in Japan etwa 70 % der auf Pollen der Japanischen Sicheltanne allergischen Patienten IgE-Antikörper besitzen (Kawamoto et al. 2002). CJP-6 ist jedoch vom Allergen Nomenclature Sub-Committee der IUIS bisher (Stand: 2. 3. 2003) nicht offiziell als Allergen beschrieben (King et al. 1994, URL: http://www.allergen.org) und wurde leider nicht auf eine eventuelle IgE-Kreuzreaktivität mit Bet v 6 und/oder Pyr c 5 hin untersucht (Kawamoto et al. 2002). Die mit Bet v 6 verwandten Allergene bestehen aus zwischen 300 und 308 Aminosäuren (Abb. 1.11) entsprechend einer relativen Molekülmasse um 34 kDa und besitzen einen neutralen berechneten isoelektrischen Punkt von zwischen 6 und 8. Da sich die NH2-terminale Aminosäuresequenz des natürlichen Isoformengemischs von Bet v 6 nicht experimentell bestimmen ließ, wird vermutet, dass das NH<sub>2</sub>-terminale Methionin von Bet v 6 posttranslational abgespalten und das dann NH<sub>2</sub>-terminale Alanin anschließend acetyliert wird (Vieths et al. 1998). Im Gegensatz zu Pyr c 5 (Karamloo et al. 2001b) zeigen die Aminosäuresequenzen von Bet v 6.0101 sowie Bet v 6.0102 eine (Karamloo et al. 1999; Karamloo et al. 2001b) und von CJP-6 zwei (Kawamoto et al. 2002) N-Glykosylierungsmotive, ein experimenteller Test auf Glykosylierung des natürlichen Isoformengemischs von Bet v 6 brachte jedoch ein negatives Ergebnis (Vieths et al. 1998). Die Ausschüttung der gleichen Menge Histamin aus menschlichen Basophilen im Reagenzglas erforderte eine um etwa drei Größenordnungen höhere Konzentration an Bet v 6.0101 als an Bet v 1.0101 (Karamloo et al. 1999). Im Gegensatz zu den mit Bet v 1 verwandten Nahrungsmittelallergenen (Abschnitte 1.2.1.2 und 1.2.1.3) sind die Unterschiede zwischen der IgE-Reaktivität von Bet v 6.0102 einerseits und Pyr c 5 andererseits gering, insbesondere kann Pyr c 5 die Bindung der IgE-Antikörper aus einem Pool von Sera von Birkenpollenallergikern mit assoziierten Nahrungsmittelallergien an Bet v 6.0102 ähnlich gut inhibieren wie Bet v 6.0102 selbst (Karamloo et al. 2001b). Daher kann nicht unbedingt davon ausgegangen werden, dass es sich bei allergischen Reaktionen auf Pyr c 5 lediglich um eine Folge der Kreuzreaktivität pollenallergenspezifischer IgE-Antikörper nach Sensibilisierung auf das natürliche Isoformengemisch von Bet v 6 handelt.





Die mit Bet v 6 verwandten Allergene zeigen eine hohe Sequenzidentität von etwa 45 % bis 65 % zu Isoflavon-Reduktasen und Pinoresinol-Lariciresinol-Reduktasen und eine noch höhere Sequenzidentität von etwa 60 % bis 85 % zu Isoflavon-Reduktase-artigen Proteinen, insbesondere Phenylcoumarin-Benzylether-Reduktasen (Karamloo et al. 1999; Karamloo et al. 2001b; Kawamoto et al. 2002), und ein für eine Isoflavon-Reduktase aus der Erbse (Pisum sativum) spezifischer polyklonaler Antikörper eines Kaninchens kreuzreagierte sowohl mit dem natürlichen Isoformengemisch von Bet v 6 als auch mit rekombinantem Bet v 6.0101 (Vieths et al. 1998; Karamloo et al. 1999). Diese Enzyme katalysieren NADPH-abhängig verschiedene Schritte der Biosynthese von mit Flavonoiden verwandten meist chiralen Phytoalexinen im Rahmen des so genannten Phenylpropanoid-Metabolismus, die zur Krankheitsabwehr der Pflanzen vor allem gegen Pilzbefall dienen (Karamloo et al. 1999; Karamloo et al. 2001b). Isoflavon-Reduktasen selbst katalysieren dabei die Reduktion der 2,3-Doppelbindung verschiedener Isoflavonoide, insbesondere von 2'-Hydroxyflavonen wie beispielsweise 2'-Hydroxyformononetin, und unterscheiden sich von Isoflavon-Reduktase-artigen Proteinen durch elf zusätzliche Aminosäuren zwischen den zu den Sequenzpositionen 39 und 40 von Bet v 6.0101, Bet v 6.0102 und Pyr c 5 (Abb. 1.11) äquivalenten Resten (Karamloo et al. 2001b). Pinoresinol-Lariciresinol-Reduktasen hingegen katalysieren die Spaltung der Furanofuran-Bindungen von 8-8'-verbundenen Lignanen wie Pinoresinol und Phenylcoumarin-Benzylether-Reduktasen die 7-O-4'-Reduktion von 8-5'-verbundenen Lignanen wie Dehydrodico-

45

niferylalkohol (Karamloo et al. 2001b). Sowohl Bet v 6.0102 als auch Pyr c 5 konnten in Gegenwart von NADPH im Reagenzglas die Umwandlung von Dehydrodiconiferylalkohol zu Isodihydrodehydrodiconiferylalkohol mit der typischen Übertragung des <sup>3</sup>H-markierten 4*R*-Wasserstoffatoms von NADPH auf das Substrat katalysieren und gehören daher zu den Phenylcoumarin-Benzylether-Reduktasen (Karamloo et al. 2001b).

Die dreidimensionale Struktur dieser Enzyme ist zum Zeitpunkt des Schreibens dieser Arbeit noch vollkommen unbekannt, und eine Suche mit PSI-BLAST (Altschul et al. 1997) nach Proteinstrukturen in der PDB mit signifikanter Sequenzidentität zu Bet v 6.0102 lieferte keinen einzigen Treffer, der eine Homologiemodellierung der Struktur der mit Bet v 6 verwandten Allergene erlauben würde. Auffällig ist jedoch die hochkonservierte glycinreiche Sequenz der Reste 11 bis 18 von Bet v 6.0101, Bet v 6.0102 und Pyr c 5 mit einem ebenso hochkonservierten basischen Rest am Ende (Abb. 1.11), die große Ähnlichkeit zu der in Abschnitt 1.2.1.4 beschriebenen P-Schleife der mit Bet v 1 verwandten Allergene zeigt und zur Bindung von NADPH dienen dürfte (Karamloo et al. 2001b).

#### 1.2.6 Bet v 7

Etwa 20 % der auf Birkenpollen allergischen Patienten besitzen IgE-Antikörper gegen das Nebenallergen Bet v 7 (Cadot et al. 2000). Bet v 7 besteht aus mindestens drei Isoformen mit einer relativen Molekülmasse von etwa 18 *kDa* und basischen gemessenen isoelektrischen Punkten von 9,0, 9,1 und 9,3, von denen jedoch bisher lediglich die Aminosäuresequenz zweier interner Fragmente von insgesamt 35 Resten bekannt ist. Diese Fragmente besaßen eine hohe Sequenzidentität mit pflanzlichen Peptidyl-Prolyl-cis/trans-Isomerasen der Cyclophilin-Familie, und das natürliche Isoformengemisch von Bet v 7 zeigte tatsächlich eine Rotamase-Aktivität, die durch Cyclosporin A inhibiert werden konnte (Cadot et al. 2000). Die weite Verbreitung der Cyclophiline in praktisch allen Organismen bei hoher Konserviertheit der Aminosäuresequenz lässt vermuten, dass auch Bet v 7 zu einer Familie von so genannten Panallergenen gehört, bisher sind allerdings noch keine IgE-Kreuzreaktivitäten zwischen Bet v 7 und anderen Allergenen beschrieben worden (Cadot et al. 2000; zusammengefasst in Vieths et al. 2002a).

# 2. Ziele der Arbeit

## 2.1 Motivation

Die methodischen Fortschritte in der Biochemie in den letzten Jahren ermöglichten die Identifizierung einer ganzen Reihe von Allergenen. Obwohl in den Industrieländern bei weiterhin steigender Tendenz mittlerweile fast jeder Vierte unter Allergien leidet und Allergien daher ein enormes gesundheitliches und volkswirtschaftliches Problem darstellen, ist neben vielen weiteren Aspekten der hochkomplexen allergischen Immunreaktion auch die Rolle der einzelnen Allergene noch nicht vollständig geklärt. So ist wie in Abschnitt 1.1.3 beschrieben beispielsweise nach wie vor unklar, welche Proteine tatsächlich klinisch relevante Allergene darstellen und vor allem warum, oder warum manche Patienten bestimmte allergische Kreuzreaktionen zeigen. Die Beantwortung dieser Fragen, deren praktische Bedeutung für die Diagnose und Therapie von Allergien sowie die Bewertung des Allergierisikos neuer Produkte offensichtlich ist, erfordert wie in Abschnitt 1.1.3 beschrieben eine umfassende biochemische und biophysikalische Charakterisierung der Allergene und insbesondere die Bestimmung ihrer dreidimensionalen Struktur in atomarer Auflösung. Der Schwerpunkt dieser Arbeit besteht daher in der NMR-spektroskopischen Untersuchung der Sekundär- und Tertiärstruktur mehrerer pflanzlicher Allergene und ihrer Implikationen in Hinblick auf zwei verschiedene Aspekte, die immunologische Wirkung und die bei den untersuchten Allergenen noch unbekannte physiologische Funktion. Die physiologische Funktion eines Allergens ist dabei nicht nur von pflanzenbiochemischem, sondern indirekt auch von allergologischem Interesse, da sie beispielsweise die für das Verständnis der Kreuzreaktionsmuster wichtige Verbreitung in den verschiedenen Organismen und Gewebearten oder für die IgE-Reaktivität wichtige posttranslationale Modifikationen oder Konformationsänderungen bestimmt und ihre Kenntnis zudem bei der biotechnologischen Herstellung von Allergenen und Allergoiden zu Zwecken der Diagnostik und Therapie hilfreich sein kann (Wechselwirkungen mit dem heterologen Expressionssystem, Reinigung durch Affinitätschromatographie, Qualitätskontrolle durch Aktivitätstests usw.).

# 2.2 Untersuchungen zur physiologischen Funktion von Pru av 1 wt

In meiner Diplomarbeit konnte ich die dreidimensionale Struktur des mit dem Hauptallergen aus Pollen der Birke Bet v 1 IgE-kreuzreaktiven Hauptallergens der Kirsche Pru av 1 wt mit NMR-Spektroskopie in atomarer Auflösung bestimmen (Neudecker 2000). Die Charakterisierung der immunologischen und physiologischen Rolle von Pru av 1 wt sollte im Rahmen dieser Arbeit nach dem im Wesentlichen bereits im Ausblick meiner Diplomarbeit aufgestellten Arbeitsplan (Neudecker 2000, Abschnitt 6.5) fortgeführt werden. In Hinblick auf die physiologische Funktion von Pru av 1 wt sollte durch Messung der heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs die vermutete erhöhte Flexibilität der Schleife von Glu 60 bis Gln 63 und der räumlich unmittelbar benachbarten Windung der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  experimentell verifiziert werden, die einem potentiellen Liganden den Zugang in den hydrophoben Hohlraum im Innern des Proteins ermöglichen dürfte (Neudecker 2000, Abschnitt 6.4). Die strukturelle Verwandtschaft von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit MLN64 (Abschnitt 1.2.1.5) legte Steroide als potentielle Liganden nahe. Durch einen Vergleich der Werte der isotropen chemischen Verschiebungen von Pru av 1 wt in Gegenwart bzw. Abwesenheit des jeweiligen Steroids sollte auch diese Hypothese anhand des Brassinosteroids 28-Homocastasteron und des besser wasserlöslichen Steroids Desoxycholat experimentell verifiziert werden. Leider stellte sich bei der Durchführung dieser Experimente heraus, dass die NMR-spektroskopisch zugänglichen Daten wegen der ungünstigen Bindungskinetik mit auf der NMR-Zeitskala intermediären Austauschprozessen weder für eine zuverlässige Quantifizierung der Bindungsaffinitäten und Bindungskinetiken noch für die Bestimmung hochaufgelöster Komplexstrukturen ausreichen. Daher sollten die möglichen Stöchiometrien der Steroidbindung sowie die mögliche Lage und Orientierung der Steroidmoleküle relativ zum Protein durch Modellierung der Komplexstrukturen ermittelt werden. Auch die Möglichkeit einer Phospholipidbindung an Bet v 1 und Pru av 1 wt sollte durch Modellierung hypothetischer Komplexstrukturen untersucht werden.

# 2.3 Analyse der kreuzreaktiven IgE-Epitope von Pru av 1 und Api g 1.0101

Auf der Grundlage einer ausführlichen Analyse der bekannten immunologischen Daten der mit Bet v 1 verwandten Allergene war von uns der Bereich der P-Schleife um Glu 45 als kreuzreaktives IgE-Epitop von Pru av 1 vorgeschlagen worden (Abschnitt 1.2.1.3). Zur experimentellen Verifizierung dieser und anderer Hypothesen zur Lage der kreuzreaktiven IgE-Epitope sollten in Zusammenarbeit mit der Abteilung Allergologie des Paul-Ehrlich-Instituts parallel sowohl die IgE-Reaktivität als auch die dreidimensionale Struktur der Mutanten Pru av 1 E45W, S112A, S112P und  $\Delta$ 155-159 untersucht werden. Der Umfang der strukturellen Charakterisierung richtete sich dabei nach den Erfordernissen der immunologischen Fragestellungen. Insbesondere stellten sich bei der Durchführung dieser Untersuchungen lediglich bei Pru av 1 E45W die immunologischen Eigenschaften als interessant genug heraus, den Aufwand für eine experimentelle Strukturbestimmung in atomarer Auflösung zu rechtfertigen. Wegen seiner besonderen immunologischen Eigenschaften wurde teilweise auch das Hauptallergen aus Sellerie Api g 1.0101 mit in diese Untersuchungen einbezogen.

## 2.4 Strukturbestimmung von Gly m 4

Gly m 4 oder SAM22 aus Sojabohnen ist sowohl stressinduzierbar (Abschnitt 1.2.1.4) als auch allergen (Abschnitt 1.2.1.2) und daher als Bindeglied zwischen der konstitutiv exprimierten Familie der mit Bet v 1 verwandten Allergene und der stressinduzierbaren Familie der PR-10-Proteine besonders interessant in Hinblick auf seine immunologische und physiologische Funktion. Außerdem nimmt mit der Verwendung von Sojabohnen in der Nahrungsmittelproduktion auch die klinische Relevanz von Sojaallergien immer mehr zu. Eine Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von Gly m 4 in atomarer Auflösung war zwar im zeitlichen Rahmen dieser Arbeit nicht mehr vollständig durchführbar, sollte aber trotzdem soweit wie möglich vorangetrieben werden. Wegen der Größe des zu untersuchenden Systems erschien dabei der Einsatz mehrdimensionaler heteronuklearer NMR-Techniken an <sup>15</sup>N- sowie <sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N-markierten Proben notwendig. Nach der Aufnahme aller für die Strukturbestimmung notwendigen NMR-Eperimente sollte zunächst die sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen abschließend durchgeführt und dadurch die Grundlage insbesondere auch für eventuelle NMR-Titrationsexperimente geschaffen werden. Anschließend sollte ein Homologiemodell von Gly m 4 erstellt und mit ersten experimentellen Strukturinformationen validiert und verfeinert werden.

## 2.5 Strukturbestimmung von holo Bet v 4

Die bisher durchgeführten NMR-spektroskopischen Untersuchungen an holo Bet v 4 reichten wie in Abschnitt 1.2.4 beschrieben an mehreren Stellen nicht für eine zuverlässige Strukturbestimmung in atomarer Auflösung aus. Neben dem NH<sub>2</sub>-terminalen Bereich, der Helix  $\alpha_2$ , der Koordination der beiden Ca<sup>2+</sup>-Ionen und der cis/trans-Isomerie der beiden Proline konnte vor allem die Lage der hochkonservierten amphipatischen COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  nicht ge-klärt werden, durch die sich die Polcalcine von anderen EF-Hand-Proteinen unterscheiden (Abschnitt 1.2.4) und die daher sowohl für die IgE-Kreuzreaktivität als auch die physiologische Funktion der Polcalcine wesentlich sein dürfte. Diese Punkte sollten im Rahmen dieser Arbeit durch Bestimmung einer wirklich hochaufgelösten dreidimensionalen Struktur von holo Bet v 4 geklärt werden, was eine zuverlässige Verifizierung und Vervollständigung der damals durchgeführten sequenzspezifischen Zuordnung der Resonanzen und eine deutliche Steigerung der Anzahl und Zuverlässigkeit der experimentellen Randbedingungen erforderte. Zu diesem Zweck sollten die vorhandenen NMR-Spektren um einen ausreichenden Satz von an einer <sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N-markierten Probe von holo Bet v 4 gemessenen NMR-Spektren ergänzt und auf dieser Grundlage die Strukturbestimmung von holo Bet v 4 einschließlich der besonders zeitaufwendigen Suche nach Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen vollständig wiederholt werden, da eine Verifizierung und Ergänzung der vorhandenen experimentellen Randbedingungen noch mehr Zeit in Anspruch genommen hätte. Die relative Orientierung der fünf  $\alpha$ -Helices von holo Bet v 4 sollte außerdem durch Messung dipolarer Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  präzisiert werden.

Die Bestimmung der Kristallstruktur von holo Phl p 7, das wie in Abschnitt 1.2.4 beschrieben als Dimer vorlag, rückte den Oligomerisierungszustand der Polcalcine in den Mittelpunkt des Interesses. Daher sollten durch NMR-spektroskopische Messung der Translationsdiffusion und durch Neuberechnung der Rotationsdiffusion aus den bereits vorhandenen NMR-Relaxationsdaten (Eisenmann 2001) auf der Grundlage der hochaufgelösten Struktur die hydrodynamischen Eigenschaften von holo Bet v 4 charakterisiert werden. Außerdem sollte mit ersten NMR-spektroskopischen Untersuchungen an apo Bet v 4 die für die physiologische Funktion der Polcalcine wichtige Konformationsänderung bei Ca<sup>2+</sup>-Bindung charakterisiert und die Möglichkeit einer Strukturbestimmung von apo Bet v 4 ausgelotet werden.

## 2.6 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Pyr c 5

Die methodischen Fortschritte der NMR-Spektroskopie in den letzten Jahren erlauben mittlerweile auch die Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von Proteinen mit einer relativen Molekülmasse von über 30 kDa in Lösung. Da die Tertiärstruktur des Birnenallergens Pyr c 5 wie in Abschnitt 1.2.5 beschrieben noch völlig unbekannt ist, sollten in dieser Arbeit durch Messung homonuklearer NMR-Spektren erste experimentelle Strukturinformationen gewonnen und die Möglichkeit einer Strukturbestimmung von Pyr c 5 ausgelotet werden.

# 2.7 Methodische Aspekte der Strukturberechnung

Die Bearbeitung dieser Projekte gab schließlich Anlass zu zwei methodischen Verbesserungen der Strukturberechnung. Zum einen sollte der unnötig hohe Rechenzeitbedarf des gaußförmigen Datenbank-Potentials reduziert werden, ohne die Qualität der resultierenden Strukturen zu beeinträchtigen. Außerdem sollten die Inkonsistenzen in der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie des Kraftfelds beseitigt werden.

# 3. Materialien und Methoden

## 3.1 NMR-Spektroskopie

### 3.1.1 NMR-Proben

Die für die NMR-spektroskopischen Untersuchungen an Pru av 1 wt und seinen Mutanten, Api g 1.0101, Gly m 4, Bet v 4 und Pyr c 5 verwendeten Proben wurden von P. Deuerling, N. Herz, K. Lehmann und J. Nerkamp hergestellt.

Im Gegensatz zu den vor Beginn dieser Arbeit ähnlich wie in Boehm und Rösch (1997) beschrieben hergestellten Proben von Pru av 1 (Nerkamp 1999; Schweimer et al. 1999; Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a) wurden rekombinantes Pru av 1 wt und seine Mutanten, Api g 1.0101, Gly m 4 und Pyr c 5 jetzt ohne NH<sub>2</sub>-terminalen Deka-Histidin-Anhang in Escherichia coli überexprimiert, deren Fermentation im Falle von isotopenmarkierten Proben in M9-Minimalmedium durchgeführt worden war. Nach dem Zellaufschluss wurde das native Protein mittels Chromatofokussierung (Sluyterman und Elgersma 1978) und/oder Anionenaustauschchromatographie (Mono Q 10/10 oder Q-Sepharose Fast Flow Resin, Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) gereinigt, wenn notwendig zusätzlich durch Reversed-Phase-Chromatographie (Delta-Pak<sup>™</sup>C18, Waters, USA). Zur Herstellung der NMR-Proben wurde lyophilisiertes Protein in einer wässrigen 10 mM bis  $50 \, mM$  Kaliumphosphat-Lösung (pH = 7,0) mit 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 10 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock gelöst. Schließlich wurden 0,5 ml dieser Lösung in ein 5 mm - NMR-Probenröhrchen überführt; teilweise wurden stattdessen Mikrozellröhrchen der Firma Shigemi (Allison Park, PA, USA) verwendet, um das erforderliche Probenvolumen gering zu halten. Die NMR-Spektren der so hergestellten Proben von Pru av 1 wt sind bis auf kleine Veränderungen für die NH2-terminalen Reste bis Phe3 und die in der dreidimensionalen Struktur benachbarte Schleife von Thr122 bis Lys129 so gut wie identisch mit denen der zur Strukturbestimmung von Pru av 1 verwendeten Proben (Nerkamp 1999; Schweimer et al. 1999; Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a). Dies legt nahe, dass ein Teil des Proteins im Laufe des nativen Reinigungsprotokolls sein NH<sub>2</sub>-terminales Methionin behielt, was durch NH<sub>2</sub>-terminale Ansequenzierung verifiziert werden konnte (Neudecker et al. 2001a) und im Gegensatz zu einer in der Literatur geäußerten Vermutung (Biesiadka et al. 2002) die korrekte Faltung von Pru av 1 wt offensichtlich nicht verhindern kann. Die mit Ausnahme der P-Schleife mit denen von Pru av 1 wt so gut wie identischen NMR-Spektren von Pru av 1 E45W (Abschnitt 4.5.2.1) weisen ebenfalls auf ein teilweises Vorhandensein des NH<sub>2</sub>-terminalen Methionins hin. Dies erscheint auch für die anderen Mutanten von Pru av 1 naheliegend, ist aus den ausschließlich vorliegenden 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren (Abschnitt 4.5.1) jedoch kaum ersichtlich.

Rekombinantes Bet v 4 wurde ebenfalls in *Escherichia coli* überexprimiert, deren Fermentation in M9-Minimalmedium durchgeführt worden war. Nach dem Zellaufschluss wurde das native Protein durch Hitzepräzipitation der *Escherichia coli* Proteine und/oder Größenausschlusschromatographie gereinigt (Nerkamp 2002), eventuell zusätzlich durch Reversed-Phase-Chromatographie (Delta-Pak<sup>TM</sup>C18, Waters, USA). Zur Herstellung der NMR-Proben wurde lyophilisiertes Bet v 4 in einer wässrigen 20 *mM* Natriumacetat-Lösung (pH = 6,0) mit 25 *mM* CaCl<sub>2</sub> für die holo-Form, 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 10 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock gelöst. Schließlich wurden 0,5 *ml* dieser Lösung in ein 5 *mm* -NMR-Probenröhrchen überführt.

Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten mehrdimensionalen Experimente standen die folgenden Proben zur Verfügung (U - 90 % bedeutet dabei eine einheitliche Markierung mit einem Anreicherungsgrad von 90 %, im Gegensatz zu selektiven Markierungen):

Probe Pru av 1 E45W: 0,7 mM [U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertes Pru av 1 E45W

Probe Gly m 4 A: 1,8 mM Gly m 4

Probe Gly m 4 B:  $1,2 \, mM$  Gly m 4 in D<sub>2</sub>O

Probe Gly m 4 C: 1,5 mM [U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertes Gly m 4

Proben Gly m 4 D: 0,7 mM bis 1,5 mM [U - 99 % <sup>13</sup>C; U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertes Gly m 4

J. Nerkamp verwendete in seiner Dissertation (2002) folgende Proben von Bet v 4:

Probe Bet v 4 A: 1,2 mM holo Bet v 4

Probe Bet v 4 B: 1,0 mM apo Bet v 4

Probe Bet v 4 C: 1,0 mM holo Bet v 4

Probe Bet v 4 D: 0.8 mM apo Bet v 4

- Probe Bet v 4 E: 1,1 mM holo Bet v 4 in D<sub>2</sub>O
- Probe Bet v 4 F: 1,5 mM [U 98 % <sup>15</sup>N]-markiertes holo Bet v 4
- Probe Bet v 4 G: 1,0 mM [U 98 % <sup>15</sup>N]-markiertes apo Bet v 4
- Probe Bet v 4 H: 1,2 mM [U 98 % <sup>15</sup>N]-markiertes holo Bet v 4

Zusätzlich dazu wurde eine doppelt markierte Probe Bet v 4 I hergestellt:

Probe Bet v 4 I: 1,5 mM [U - 99 % <sup>13</sup>C; U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertes holo Bet v 4

Probe Pyr c 5: 4,0 mM Pyr c 5

## 3.1.2 Allgemeine Messbedingungen

Alle NMR-Spektren wurden mit Avance400, DRX600 oder DMX750 NMR-Spektrometern der Firma Bruker (Karlsruhe) aufgenommen, die mit inversen <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N/(<sup>31</sup>P)-Drei- oder Vierfachresonanz-Probenköpfen mit aktiv abgeschirmten Gradientenspulen für die longitudinale oder alle drei Raumachsen ausgestattet waren. Für die Temperaturregulierung sorgte eine BVT2000- oder BVT3000-Einheit von Bruker, die die Temperatur mit Hilfe eines Luftstroms konstant hält.

Die Wasserresonanz wurde bei den homonuklearen <sup>1</sup>H-Experimenten durch Excitation Sculpting (Hwang und Shaka 1995) unterdrückt, bei den auf den Amidprotonen detektierten Experimenten mit Ausnahme des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz (Sklenar et al. 1993) mit Water Flip-Back (Grzesiek und Bax, 1993c) und bei den verbleibenden Experimenten durch Kohärenzselektion mit gepulsten Feldgradienten (Schleucher et al. 1994), die mit Ausnahme des 3D-<sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC und bei Gly m 4 des 3D-<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NOESY-HSQC entlang des magischen Winkels angelegt wurden (Warren et al. 1993; van Zijl et al. 1995; Richter und Warren 2000), zu dessen Kalibrierung ein 1D-DQF-COSY diente (van Zijl et al. 1995). Zur Quadraturdetektion in den indirekten Dimensionen diente die States-TPPI-Methode (States et al. 1982; Marion et al. 1989b) oder die Echo/Antiecho-Technik (Kay et al. 1992), wenn eine Kohärenzselektion mit gepulsten Feldgradienten benutzt wurde (Tab. 3.1). Zusätzlich zu denen auf dem <sup>1</sup>H-Kanal wurden auch die Pulslängen auf dem <sup>13</sup>C- und <sup>15</sup>N-Kanal direkt an der jeweiligen Probe bestimmt, wozu X-Filter-artige Pulssequenzen (Griesinger et al. 1994, Abschnitt 3.3.7) mit Vorsättigung der H<sub>2</sub>O-Resonanz verwendet wurden. Auf dem <sup>13</sup>C-Kanal wurden typischerweise bandselektive Rechteck-, BURP- (Geen und Freeman 1991) oder Gauß-Kaskaden- (Emsley und Bodenhausen 1990) Pulse eingesetzt, um zwischen Aliphaten- und Carbonyl-Resonanzen zu unterscheiden (Sattler et al. 1999). Für den TOCSY-Magnetisierungstransfer auf dem <sup>13</sup>C-Kanal beim H(CCO)NH und C(CO)NH dienten DIPSI-2-Sequenzen (Shaka et al. 1988) mit Feldstärken von 7143 Hz bei 150,91 MHz bzw. 8333 Hz bei 188,63 MHz, für die Kreuzpolarisation sowie den TOCSY-Magnetisierungstransfer auf dem <sup>13</sup>C-Kanal beim HC(C)H-TOCSY eine DIPSI-2-Sequenz (Shaka et al. 1988) mit einer Feldstärke von 9259 Hz bei 150,91 MHz, und für den TOCSY-Magnetisierungstransfer auf dem <sup>1</sup>H-Kanal beim 2D-TOCSY und 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC DIPSI-2rc-Sequenzen (Cavanagh und Rance 1992) mit z-Filter (Rance 1987) mit Feldstärken von 8333 Hz bei 600,13 MHz bzw. 10000 Hz bei 750,13 MHz. WALTZ-16 (Shaka et al. 1983), GARP (Shaka et al. 1985) bzw. in ein MLEV-4 Schema entwickelte durch Phasenmodulation frequenzverschobene Gauß-Kaskaden (Eggenberger et al. 1992) wurden für heteronukleare Breitband-<sup>1</sup>H-, Breitband-<sup>13</sup>C- oder Breitband-<sup>15</sup>N- bzw. bandselektive <sup>13</sup>C-Composite-Pulse-Entkopplung verwendet. Die chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne sind relativ zu 2,2-Dimethyl-2-silapentan-5sulfonat (DSS) in D<sub>2</sub>O als externem Standard referenziert, die die der anderen Kerne hingegen indirekt über die relativen Nullpunktsfrequenzen  $E(^{13}C) = 25,1449530 MHz$  für <sup>13</sup>C-Kerne bzw.  $E(^{15}N) = 10,1329118 MHz$  für <sup>15</sup>N-Kerne, wenn man die relative Nullpunktsfrequenz der <sup>1</sup>H-Kerne auf  $E(^{1}H) = 100,0000000 MHz$  setzt (Markley et al. 1998). Bei Vergleichen ist zu beachten, dass die in meiner Diplomarbeit (Neudecker 2000) bzw. in der Dissertation von J. Nerkamp (2002) abgedruckten chemischen Verschiebungen der <sup>15</sup>N-Kerne von Pru av 1 wt bzw. holo Bet v 4 um systematisch 0,66 *ppm* größer sind, da dort noch die dem mittlerweile allgemein anerkannten IUPAC-Standard (Markley et al. 1998) nicht mehr entsprechende relative Nullpunktsfrequenz von  $E(^{15}N) = 10,1329051 MHz$  (Edison et al. 1994) verwendet

wurde. Die unter der Kennung 4671 in der BioMagResBank (BMRB) hinterlegten chemischen Verschiebungen der <sup>15</sup>N-Kerne von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000) hingegen wurden mittlerweile dem IUPAC-Standard entsprechend nachreferenziert.

## 3.1.3 Aufnahme der Spektren

Für 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren wurden bei einem spektralen Fenster von 6410,3 Hz bei 400,13 MHz bzw. 8389,3 Hz oder 9615,4 Hz bei 600,13 MHz 8192 komplexe Datenpunkte aufgenommen. Zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses wurden 1024 FIDs mit einem Wiederholungsintervall von 1,50 s akkumuliert, außer bei Pru av 1 S112P mit 16384 FIDs. Von der doppelt markierten Probe Bet v 4 I (Abschnitt 3.1.1) wurden für ein 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum bei einem spektralen Fenster von 12019,2 Hz bei 750,13 MHz 2048 komplexe Datenpunkte mit heteronuklearer Breitband-<sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N-Composite-Pulse-Entkopplung (Abschnitt 3.1.2) aufgenommen, wobei 256 FIDs mit einem Wiederholungsintervall von 3,00 s akkumuliert wurden. Die heteronukleare Breitband-13C-GARP-Entkopplung konnte wegen der starken Wärmeentwicklung in der Probe lediglich mit einer Feldstärke von 3571 Hz einwerden und deckte daher nur eine Bandbreite von jeweils etwa gesetzt  $2,4 \cdot 3571 Hz = 8571 Hz$  bzw. 45,4 ppm unterhalb und oberhalb der Senderfrequenz von 38,0 ppm effektiv ab (Shaka et al. 1985), so dass die typischerweise etwa 160 Hz entsprechend 0,85 ppm große (Günther 1992, Abschnitt 11.4.1.2) heteronukleare skalare Kopplung der Aromatenringprotonen über eine Bindung an die Aromatenringkohlenstoffatome mit einer typischen Resonanzfrequenz zwischen etwa 110 ppm und 140 ppm (Günther 1992, Abschnitt 11.3) nicht vollständig eliminiert werden konnte. Auf die Verwendung adiabatischer Pulse zur Reduzierung der Wärmeleistung, was eine Steigerung der Bandbreite erlaubt hätte, wurde jedoch wegen der ohne eine aufwendige Unterdrückung dabei auftretenden Seitenbanden (Kupce 2001) verzichtet.

Tab. 3.1 fasst die wichtigsten Aufnahmeparameter der an Pru av 1 E45W, Gly m 4, Bet v 4 und Pyr c 5 gemessenen mehrdimensionalen NMR-Spektren zusammen. Der Übersichtlichkeit halber sind auch die bereits in der Dissertation von J. Nerkamp (2002) beschriebenen Spektren von Bet v 4 noch einmal aufgeführt, soweit sie zur Verfügung standen und benutzt wurden. Ein Großteil dieser Experimente war vorher in ähnlicher Form erfolgreich zur Strukturbestimmung anderer biologischer Systeme eingesetzt worden; da die zugehörigen Pulssequenzen, die mit nur geringfügigen Modifikationen auch für diese Arbeit verwendet wurden, in der Dissertation von K. Schweimer (2000) bereits ausführlich beschrieben sind, sei für weitere experimentelle Details darauf verwiesen.

Exp	periment	<sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-HSQC	3D-1H,15N-TOCSY-HSQC	3D-1H,15N-NOESY-HSQC	HNHA
Pro	be	Pru av 1 E45W	Pru av 1 E45W	Pru av 1 E45W	Pru av 1 E45W
Τ/	K	298	298	298	298
NS		16	16	16	48
F1	Kern	<sup>15</sup> N	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H	$^{1}\mathrm{H}$
	SFO / MHz	76,02	750,13	750,13	600,13
	SW / Hz	1938,5	8992,8	8992,8	4800,0
	TD	192	128	128	80
F2	Kern	${}^{1}\mathbf{H}$	<sup>15</sup> N	<sup>15</sup> N	<sup>15</sup> N
	SFO / MHz	750,13	76,02	76,02	60,82
	SW / Hz	8992,8	1938,5	1938,2	32
	TD	1024	32	32	1550,9
F3	Kern	-	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H	$^{1}\mathrm{H}$
	SFO / MHz	-	750,13	750,13	600,13
	SW / Hz	-	8992,8	8992,8	7183,9
	TD	-	512	512	512
WS		WG	E/A	WG	WG
Mis	schzeit / ms	-	60	120	-
Au	fnahmedauer / h	3	103	104	163
Lite	eraturverweis	Mori et al. 1995	Zhang et al. 1994	Talluri und Wagner 1996	Zhang et al. 1997

Tab. 3.1 Aufnahmeparameter der gemessenen mehrdimensionalen NMR-Spektren. Die Dimensionen sind mit F1 bis F3 bezeichnet, die direkte Dimension ist dabei immer die jeweils letzte. T ist die Temperatur in Kelvin, NS die Anzahl der akkumulierten FIDs, SFO die Senderfrequenz in MHz, SW das spektrale Fenster in Hz, TD die Anzahl der aufgenommen komplexen Datenpunkte und WS die Art der verwendeten Wasserunterdrückung (ES: Excitation Sculpting, WG: WATERGATE, E/A: Echo/Antiecho).

Exp	periment	3D- <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N/ <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-HMQC-NOES	SY-HSQC	<sup>15</sup> N	V-gefiltertes 2D-NOESY	
Pro	be	Pru av 1 E45W			Pru av 1 E45W	
Τ/	К	298		298		
NS		64		256		
F1	Kern	<sup>15</sup> N			$^{1}\mathrm{H}$	
	SFO / MHz	60,82			600,13	
	SW / Hz	1550,9		6100,4		
	TD	32			256	
F2	Kern	$^{15}$ N			${}^{1}\mathrm{H}$	
	SFO / MHz	60,82			600,13	
	SW / Hz	1550,9			7183,9	
	TD	40			1024	
F3	Kern	ΙΗ			-	
	SFO / MHz	600,13			-	
	SW / Hz	7183,9			-	
	TD	512			-	
WS	•	WG			WG	
Mis	schzeit / ms	150			120	
Au	fnahmedauer / h	120		48		
Lite	eraturverweis	Frenkiel et al. 1990; Ikura et a	l. 1990c	Mutzen	hardt und Bodenhausen 1998	
Exp	periment	2D-TOCSY	2D-NO	ESY	2D-TOCSY	
Pro	be	Gly m 4 A	Gly m	4 A	Gly m 4 B	
Τ/	K	298	298	8	298	
NS		128	128	8	128	
F1	Kern	lΗ	<sup>1</sup> H	-	<sup>1</sup> H	
	SFO / MHz	600,13	600,	13	600,13	
	SW / Hz	8389,3	8389	9,3	8389,3	
	TD	320	320	)	320	
F2	Kern	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>1</sup> H	-	<sup>1</sup> H	
	SFO / MHz	600,13	600,	13	600,13	
	SW / Hz	8389,3	8389	9,3	8389,3	
	TD	2048	204	-8	2048	
F3	Kern	-	-		-	
	SFO / MHz	-	-		-	
	SW / Hz	-	-		-	
	TD	-	-		-	
WS		ES	ES		ES	
Mi	schzeit / ms	60	120	)	60	
10112						
Au	fnahmedauer / h	38	38		38	

56

## 3. Materialien und Methoden

Exp	periment	2D-NOESY	<sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-	HSQC	HNHA	3D- <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-TOC	CSY-HSQC
Pro	be	Gly m 4 B	Gly n	n 4 C	Gly m 4 C	Gly m 4 C	
Τ/	K	298	29	8	298	298	
NS		128	1	6	16	16	
F1	Kern	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>15</sup> ]	N	ιΗ	<sup>1</sup> H	
	SFO / MHz	600,13	60,	82	600,13	600,1	3
	SW / Hz	8389,3	1824,6		5000,0	7183,	9
	TD	320	19	02	90	128	
F2	Kern	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>1</sup> H	ł	<sup>15</sup> N	<sup>15</sup> N	
	SFO / MHz	600,13	600	,13	60,82	60,82	2
	SW / Hz	8389,3	718	3,9	1824,6	1824,	6
	TD	2048	10	24	32	32	
F3	Kern	-	-		<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H	
	SFO / MHz	-	-		600,13	600,1	3
	SW / Hz	-	-		7183,9	7183,	9
	TD	-	-		512	512	
WS	5	ES	W	G	WG	E/A	
Mis	schzeit / ms	120	-		-	60	
Au	fnahmedauer / h	38	3	5	61	91	
Lite	eraturverweis	Jeener et al. 1979	Mori et	al. 1995 Zhang et al. 1997 Zhang et a		Zhang et a	l. 1994
Exp	periment	3D- <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-NOES	Y-HSQC	3D- <sup>1</sup> H,	<sup>15</sup> N/ <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-HMQC-	NOESY-HSQC	<sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-HSQC
Pro	be	Gly m 4 C	2		Gly m 4 C	, ,	Gly m 4 D
<b>T</b> /	K	298			298		298
NS		16			32		24
F1	Kern	$^{1}\mathrm{H}$			<sup>15</sup> N		<sup>15</sup> N
	SFO / MHz	600,13			60,82		76,02
	SW / Hz	7183,9			1824,6		2280,6
	TD	128			32		192
F2	Kern	<sup>15</sup> N			<sup>15</sup> N		${}^{1}\mathrm{H}$
	SFO / MHz	60,82			60,82		750,13
	SW / Hz	1824,6			1824,6		8992,8
	TD	32			48		1024
F3	Kern	<sup>1</sup> H			$^{1}\mathrm{H}$		-
		<sup>1</sup> H 600.13					
	SFO / MHz	600,13			600,13	-	
	SFO / MHz SW / Hz	600,13 7183,9			600,13 7183,9		-
	SFO / MHz SW / Hz TD	600,13 7183,9 512			600,13 7183,9 512		
WS	SFO / MHz SW / Hz TD	600,13 7183,9 512 WG			600,13 7183,9 512 WG		- - - WG
WS	SFO / MHz SW / Hz TD Schzeit / ms	600,13 7183,9 512 WG 120			600,13 7183,9 512 WG 150		- - - WG -
WS Mis Au	SFO / MHz SW / Hz TD Schzeit / ms fnahmedauer / h	600,13 7183,9 512 WG 120 90			600,13 7183,9 512 WG 150 72		- - - WG - 4

Exp	periment	HNCA	CBCA(CO	)NH	H(CCO)NH	
Pro	be	Gly m 4 D	Gly m 4	D	Gly m 4 D	
Τ/	K	298	298		298	
NS		32	32		32	
F1	Kern	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C		$^{1}\mathrm{H}$	
	SFO / MHz	188,63	188,63		750,13	
	SW / Hz	5281,9	10940,9	Ð	5000,0	
	TD	38	48		64	
F2	Kern	<sup>15</sup> N	<sup>15</sup> N		<sup>15</sup> N	
	SFO / MHz	76,02	76,02		76,02	
	SW / Hz	2280,6	2280,6	i	2280,6	
	TD	32	28		32	
F3	Kern	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H		<sup>1</sup> H	
	SFO / MHz	750,13	750,13		750,13	
	SW / Hz	8992,8	8992,8		8892,8	
	TD	512	512		512	
WS	5	WG	WG		WG	
Mi	schzeit / ms	-	-		17	
Au	fnahmedauer / h	57	66		102	
Lite	eraturverweis	Grzesiek und Bax 1992	a Grzesiek und B	ax 1992b	Grzesiek und Bax	1993b
Exp	periment	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC	(H)CCH-COSY	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC	
Exp Pro	periment be	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D	(H)CCH-COSY Gly m 4 D	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D	
Exp Pro T /	beriment be K	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298	
Exp Pro T / NS	beriment be K	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16	
Exp Pro T / NS F1	beriment be K Kern	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 <sup>13</sup> C	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H	
Exp Pro T / NS F1	beriment K Kern SFO / MHz	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 <sup>13</sup> C 188,63	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13	
Exp Pro T / NS F1	be K Kern SFO / MHz SW / Hz	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 <sup>13</sup> C 188,63 12262,4	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8	
Exp Pro T / NS F1	k K Kern SFO / MHz SW / Hz TD	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128	
Exp Pro T / NS F1	be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> (	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C	
Exj Pro T / NS F1 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 13C 188,63	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63	
Exp Pro T / NS F1 F2	periment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 188,63 188,63 5659,3	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 128 13C 188,63 5658,5	
Exp Pro T / NS F1 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 13C 188,63 5659,3 26	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63 5658,5 32	
Exp Pro T / NS F1 F2 F2	periment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024 -	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 188,63 188,63 5659,3 26 1H	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63 5658,5 32 <sup>1</sup> H	
Exp Pro T / NS F1 F2 F2 F3	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024 -	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 13C 188,63 12262,4 64 13C 64 13C 188,63 5659,3 26 1H 750,13	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup>	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 128 13C 188,63 5658,5 32 <sup>1</sup> H 750,13	
Exp Pro T / NS F1 F2 F2 F3	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SFO / MHz SFO / MHz	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024 - -	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 13C 188,63 5659,3 26 188,63 5659,3 26 1 <sup>1</sup> H	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> (	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63 5658,5 32 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8	
Exp Pro T / NS F1 F2 F2 F3	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD SFO / MHz	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024 - - - -	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 188,63 5659,3 26 188,63 26 188,63 5659,3 26 1 1 750,13 8992,8	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> (	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63 5658,5 32 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 512	
Exp Pro T / NS F1 F2 F3 WS	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024 - - - - - - E/A	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 64 13C 188,63 5659,3 26 5659,3 26 1H 750,13 8992,8 512 E/A	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> (	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63 5658,5 32 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 512 E/A	
Exp Pro T / NS F1 F2 F3 WS Mis	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD SFO / MHz SW / Hz TD	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024 - - - - - E/A _	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 64 64 13C 13C 188,63 5659,3 26 14 750,13 8992,8 512 E/A	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> (	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63 5658,5 32 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 512 E/A 120	
Exp Pro T / NS F1 F2 F2 F3 WS Mis Au	be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD SFO / MHz SW / Hz TD SFO / MHz SFO / MHZ	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 188,63 13201,3 320 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 1024 - - - - E/A - E/A - 12	(H)CCH-COSY Gly m 4 D 298 24 13C 188,63 12262,4 64 13C 188,63 5659,3 26 188,63 5659,3 26 1H 750,13 8992,8 512 E/A -	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> (	C-NOESY-HSQC Gly m 4 D 298 16 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 128 <sup>13</sup> C 188,63 5658,5 32 <sup>1</sup> H 750,13 8992,8 512 E/A 120 96	

# 3. Materialien und Methoden

Exp	periment	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C/ <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-HMQC-NC	ESY-HSQC	HN	ICO	
Pro	be	Gly m 4 D		Gly	m 4 D	
<b>T</b> /	Κ	298		2	98	
NS		24		1	6	
F1	Kern	<sup>13</sup> C		13	<sup>3</sup> C	
	SFO / MHz	188,63		150	),93	
	SW / Hz	12262,4		150	09,3	
	TD	62		3	86	
F2	Kern	$^{15}N$		15	Ň	
	SFO / MHz	76,02		60	,82	
	SW / Hz	2280,5		182	24,6	
	TD	32		3	32	
F3	Kern	${}^{1}\mathrm{H}$		1	Н	
	SFO / MHz	750,13		60	0,13	
	SW / Hz	8992,8		713	83,9	
	TD	512		5	12	
WS	5	WG		W	/G	
Mis	schzeit / ms	150			-	
Au	fnahmedauer / h	67		2	27	
Literaturverweis		Diercks et al. 199	9	Grzesiek un	d Bax 1992a	
Exp	periment	HNCACB	HBHA(CB	CACO)NH	C(CO	)NH
Exp Pro	periment be	HNCACB Gly m 4 D	HBHA(CB) Gly n	CACO)NH n 4 D	C(CO Gly m	)NH 4 D
Exp Pro T /	beriment be K	HNCACB Gly m 4 D 298	HBHA(CBC) Gly n 29	CACO)NH n 4 D 28	C(CO Gly m 29	)NH 4 D 8
Exp Pro T / NS	beriment be K	HNCACB Gly m 4 D 298 48	HBHA(CBC Gly n 29 3	CACO)NH n 4 D 08 2	C(CO Gly m 299	)NH 4 D 8
Exp Pro T / NS F1	beriment be K Kern	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C	HBHA(CB Gly n 29 32	CACO)NH n 4 D 08 2 H	C(CO Gly m 299 32	)NH 4 D 8 2
Exp Pro T / NS F1	beriment be K Kern SFO / MHz	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91	HBHA(CB Gly n 29 31 1 1 600	CACO)NH 1 4 D 18 2 1 1 ,13	C(CO Gly m 299 32 <sup>13</sup> C 150,	)NH 4 D 8 2 2 91
Exp Pro T / NS F1	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7	HBHA(CB Gly n 29 32 1 1 H 600 300	CACO)NH n 4 D 28 2 H ,13 0,0	C(CO Gly m 299 32 <sup>13</sup> C 150, 1056	)NH 4 D 8 2 91 3,6
Exp Pro T / NS F1	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52	HBHA(CB) Gly n 29 32 14 600 300 54	CACO)NH n 4 D 28 2 H ,13 0,0 4	C(CO Gly m 299 32 <sup>13</sup> C 150, 1056 58	)NH 4 D 8 2 91 3,6 8
Exp Pro T / NS F1 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N	HBHA(CBC Gly n 29 33 14 600 300 54	CACO)NH n 4 D 98 2 H ,13 0,0 4 N	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58	)NH 4 D 8 2 91 3,6 8
Exp Pro T / NS F1 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82	HBHA(CB Gly n 29 32 1 1 4 600 300 54 15 1 60,	CACO)NH n 4 D 98 2 H ,13 0,0 4 N 82	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8	)NH 4 D 8 2 2 91 3,6 8 8 8 8 8 8 8 8 8
Exp Pro T / NS F1 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6	HBHA(CB Gly n 29 32 14 600 300 54 15 10 60, 182	CACO)NH n 4 D 28 2 H ,13 0,0 4 N 82 4,6	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8 1824	)NH 4 D 8 2 2 91 3,6 3 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8
Exp Pro T / NS F1 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32	HBHA(CB Gly n 29 32 14 600 300 54 15 1 60, 182 32	CACO)NH n 4 D 28 2 H ,13 0,0 4 N 82 4,6 2	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8 1824 24	NH   4 D   8   2   91   3,6   3   4   8   91   3,6   3   4   4   4   5   5   4   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   5   6   5
Exp Pro T / NS F1 F2 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32 <sup>1</sup> H	HBHA(CB Gly n 29 32 1 1 4 600 300 54 15] 60, 182 32 32 1 1 1 1 1 2 60, 182 32 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1	CACO)NH n 4 D 98 2 4 1 ,13 0,0 4 82 4,6 2 1	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 15N 60,8 1824 24	NH   4 D   8   2   91   3,6   8   8   91   3,6   8   1
Exp Pro T / NS F1 F2 F2 F3	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32 <sup>1</sup> H 600,13	HBHA(CBG Gly n 29 33 14 600 300 54 15 15 60, 182 33 14 600	CACO)NH n 4 D 28 2 H ,13 0,0 4 N 82 4,6 2 H ,13	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8 1824 24 	)NH 4 D 8 2 2 91 3,6 3 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8
Exp Pro T / NS F1 F2 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SFO / MHz SFO / MHz	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32 <sup>1</sup> H 600,13 7183,9	HBHA(CB Gly n 29 32 1 1 600 300 54 54 54 600 182 32 1 57 600 182 32 1 1 1 8 2 32 1 1 8 2 32 1 1 8 2 32 1 1 8 2 32 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	CACO)NH n 4 D 28 2 1 1 ,13 0,0 4 82 4,6 2 1 1 ,13 3,9	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8 1824 24 24 1824 24 1824 24 7183	NH   4 D   8   2   91   3,6   3   4,6   4   13   3,9
Exp Pro T / NS F1 F2 F2	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32 <sup>1</sup> H 600,13 7183,9 512	HBHA(CB Gly n 29 32 1 1 4 600 300 54 1 51 600 718 51	CACO)NH n 4 D 98 2 1 1 ,13 0,0 4 4 N 82 4,6 2 1 1 ,13 3,9 2	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8 1824 24 <sup>15</sup> N 600, 7183 512	NH   4 D   8   2   91   3,6   3   4,6   1   13   3,9   2
Exp Pro T / NS F1 F2 F3 WS	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32 <sup>1</sup> H 600,13 7183,9 512 WG	HBHA(CB Gly n 29 32 14 600 300 54 15 16 600 182 33 17 600 718 51 W	CACO)NH n 4 D 28 2 H ,13 0,0 4 N 82 4,6 2 H ,13 3,9 2 G	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8 1824 24 <sup>1</sup> H 600, 7183 511 WC	NH     4 D     8     2     91     3,6     3     4     13     3,9     2     3
Exp Pro T / NS F1 F2 F3 WS Mis	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD SFO / MHz SW / Hz TD	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32 <sup>1</sup> H 600,13 7183,9 512 WG	HBHA(CB Gly n 29 32 1 4 600 300 54 157 60, 182 32 32 157 60, 182 32 157 600 718 51 51 WW	CACO)NH n 4 D 98 2 1 1 ,13 0,0 4 N 82 4,6 2 1 1 ,13 3,9 2 G G	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 <sup>15</sup> N 60,8 1824 24 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1824 24 1935 1935 1935 1935 1935 1935 1935 1935	NH   4 D   8   2   91   3,6   3   4,6   4   13   3,9   2   3   5
Exp Pro T / NS F1 F2 F2 F3 WS Mis Aut	beriment be K Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD Kern SFO / MHz SW / Hz TD SFO / MHz SW / Hz TD SFO / MHz	HNCACB Gly m 4 D 298 48 <sup>13</sup> C 150,91 8752,7 52 <sup>15</sup> N 60,82 1824,6 32 <sup>1</sup> H 600,13 7183,9 512 WG - 120	HBHA(CB4 Gly n 29 33 <sup>1</sup> H 600 300 54 15] 60, 182 33 15] 60, 182 33 17 600 718 51 87	CACO)NH n 4 D 28 2 4 1 3,13 0,0 4 4 82 4,6 2 4,6 2 4,6 2 4,6 2 4,6 2 4 5 7	C(CO Gly m 299 32 13C 150, 1056 58 15N 60,8 1824 24 14 600, 7183 517 WC 16 70	)NH     4 D     8     2     91     3,6     3     3,6     3     4,6     1     13     3,9     2     5     0

Exp	periment	H(C)CH-COSY	HC(C)H-TOC	SY 2D	-TOCSY
Pro	be	Gly m 4 D	Gly m 4 D	В	et v 4 E
Τ/	K	298	298		298
NS		32	16		96
F1	Kern	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>1</sup> H		$^{1}\mathrm{H}$
	SFO / MHz	600,13	600,13		600,13
	SW / Hz	4000,0	4000,0		8389,3
	TD	66	80		256
F2	Kern	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
	SFO / MHz	150,91	150,91		600,13
	SW / Hz	4527,4	4527,4		8389,3
	TD	26	32		2048
F3	Kern	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H		-
	SFO / MHz	600,13	600,13		-
	SW / Hz	8389,3	8389,3		-
	TD	512	512		-
WS	5	E/A	E/A		ES
Mi	schzeit / ms	-	12		60
Au	fnahmedauer / h	86	59		22
Lite	eraturverweis	Ikura et al. 1991b	Wijmenga et al.	1997 Braunschwei	iler und Ernst 1983
Exp	periment	2D-NOESY	<sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-HSQC	HNHA	3D- <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-TOCSY-HSQC
Pro	be	Bet v 4 E	Bet v 4 F	Bet v 4 F	Bet v 4 F
Τ/	К	298	298	298	298
NS		96	4	8	8
F1	Kern	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>15</sup> N	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>1</sup> H
	SFO / MHz	600,13	60,82	600,13	600,13
	SW / Hz	8389,3	1216,4	5000,0	6901,3
	TD	256	192	90	128
F2	Kern	$^{1}\mathrm{H}$	${}^{1}\mathbf{H}$	<sup>15</sup> N	$^{15}$ N
	SFO / MHz	600,13	600,13	60,82	60,82
	SW / Hz	8389,3	8389,3	1216,4	1216,4
	TD	2048	1024	32	32
F3	Kern	-	-	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>1</sup> H
	SFO / MHz	-	-	600,13	600,13
	SW / Hz	-	-	8389,3	8389,3
	TD	_	-	512	512
	10				
WS		ES	WG	WG	E/A
WS Mis	schzeit / ms	ES 120	WG -	WG -	E/A 80
WS Mis Au	schzeit / ms fnahmedauer / h	ES 120 22	WG - 1	WG - 32	E/A 80 46

Exp	periment	3D- <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-NOESY-HSQC	$3D^{-1}H$ , $^{15}N/^{1}H$ , $^{15}$	N-HMQC	C-NOESY-HSQC <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-H		
Pro	be	Bet v 4 F		Bet v 4 F	1	Bet v 4 I	
Τ/	K	298		298		298	
NS		8		16	16		
F1	Kern	<sup>1</sup> H		<sup>15</sup> N			
	SFO / MHz	600,13		76,02			
	SW / Hz	6901,3		1216,4		1520,4	
	TD	128		32		192	
F2	Kern	<sup>15</sup> N		$^{15}N$		<sup>1</sup> H	
	SFO / MHz	60,82		60,82		750,13	
	SW / Hz	1216,4		1216,4		10504,2	
	TD	32		48		1024	
F3	Kern	<sup>1</sup> H		$^{1}\mathrm{H}$		-	
	SFO / MHz	600,13		600,13		-	
	SW / Hz	8389,3		8389,3		-	
	TD	512		512		-	
WS		WG		WG		WG	
Mis	schzeit / ms	120		150		-	
Au	fnahmedauer / h	47		37		3	
Lite	eraturverweis	Talluri und Wagner 1996	Frenkiel et al.	. 1990; Iku	ıra et al. 1990c	Mori et al. 199	
Exp	periment	3D-1H,15N-NOESY-HSQC	HNCO	HNCA	C(CO)N	Н	
Pro	be	Bet v 4 I	Bet v 4 I	Bet v 4 I	Bet v 4	[	
Τ/	К	298	298	298	298		
NS		8	8	8	16		
F1	Kern	${}^{1}\mathrm{H}$	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C		
	SFO / MHz	750,13	188,65	188,63	188,63		
	SW / Hz	10504,2	1886,3	5281,9	12262,4		
	TD	128	32	40	64		
F2	Kern	<sup>15</sup> N	<sup>15</sup> N	<sup>15</sup> N	<sup>15</sup> N		
	SFO / MHz	76,02	76,02	76,02	76,02		
	SW / Hz	1520,4	1520,4	1520,4	1520,4		
	TD	32	20	32	32		
F3	Kern	<sup>1</sup> H	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H		
	SFO / MHz	750,13	750,13	750,13	750,13		
	SW / Hz	10504,2	10504,2	10504,2	10504,2	,	
	TD	512	512	512	512		
WS	5	WG	WG	WG	WG		
Mis	schzeit / ms	150	-	-	17		
Au	fnahmedauer / h	47	8	15	51		
Lite	eraturverweis	Talluri und Wagner 1996	Grzesiek und B	ax 1992a	Grzesiek und Ba	ax 1993b	

Exp	periment	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-CTHSQC	H(C)CH-COSY	(H)CCH-COSY	3D-1H,13C-NOESY-HSQC
Pro	be	Bet v 4 I	Bet v 4 I	Bet v 4 I	Bet v 4 I
Τ/	К	298	298	298	298
NS		32	8	8	16
F1	Kern	<sup>13</sup> C	${}^{1}\mathbf{H}$	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H
	SFO / MHz	188,63	750,13	188,63	750,13
	SW / Hz	13201,3	5000,0	12262,4	8992,8
	TD	320	80	64	128
F2	Kern	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C
	SFO / MHz	750,13	188,63	188,63	188,63
	SW / Hz	8992,8	5659,3	5659,3	5658,5
	TD	1024	32	32	32
F3	Kern	-	$^{1}\mathrm{H}$	$^{1}\mathrm{H}$	<sup>1</sup> H
	SFO / MHz	-	750,13	750,13	750,13
	SW / Hz	-	8992,8	8992,8	8992,8
	TD	-	512	512	512
WS		E/A	E/A	E/A	E/A
Mis	schzeit / ms	-	-	-	150
Au	fnahmedauer / h	8	32	26	97
Lite	eraturverweis	Vuister und Bax 1992	Ikura et a	al. 1991b	Ikura et al. 1990a

Exp	periment	3D- <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C/ <sup>1</sup> H, <sup>15</sup> N-HMQC-NOESY-HSQC
Pro	be	Bet v 4 I
Τ/	К	298
NS		16
F1	Kern	<sup>13</sup> C
	SFO / MHz	188,63
	SW / Hz	12262,4
	TD	64
F2	Kern	<sup>15</sup> N
	SFO / MHz	76,02
	SW / Hz	1520,4
	TD	32
F3	Kern	'Η
	SFO / MHz	750,13
	SW / Hz	10504,2
	TD	512
WS		WG
Mis	schzeit / ms	150
Au	fnahmedauer / h	46
Lite	eraturverweis	Diercks et al. 1999
### 3. Materialien und Methoden

			1
Experiment		2D-TOCSY	2D-NOESY
Probe		Pyr c 5	Pyr c 5
T / K		298	298
NS		128	128
F1	Kern	'Η	<sup>1</sup> H
	SFO / MHz	600,13	600,13
	SW / Hz	8389,3	8389,3
	TD	320	320
F2	Kern	<sup>1</sup> H	$^{1}\mathrm{H}$
	SFO / MHz	600,13	600,13
	SW / Hz	8389,3	8389,3
	TD	2048	2048
F3	Kern	-	-
	SFO / MHz	-	-
	SW / Hz	-	-
	TD	-	-
WS		ES	ES
Mischzeit / ms		60	80
Aufnahmedauer / h		38	37
Literaturverweis		Braunschweiler und Ernst 1983	Jeener et al. 1979

Tab. 3.1 Aufnahmeparameter der gemessenen mehrdimensionalen NMR-Spektren (Fortsetzung).

### 3.1.4 Prozessierung und Auswertung der Spektren

Die Daten der ein- und zweidimensionalen NMR-Experimente wurden mit Hilfe des Programmpakets NDEE (SpinUp Inc., Dortmund) prozessiert. Zur Steigerung der digitalen Auflösung wurde die Länge der FIDs typischerweise in allen Dimensionen durch Auffüllen mit Nullen verdoppelt (einfaches Zero-Filling; Cavanagh et al. 1996, Abschnitt 3.3.2.1). Eine anschließende Multiplikation mit einer Exponentialfunktion mit einer Linienverbreiterung von 2 *Hz* der vollen Breite bei halber Höhe (FWHM) bei den 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren bzw. einer um 60° bis 90° verschobenen Sinusquadratfunktion bei den 2D-NMR-Spektren als Filterfunktion reduzierte die durch das Abschneiden der FIDs bei zu kurzen Aufnahmezeiten verursachten Artefakte (Cavanagh et al. 1996, Abschnitt 3.3.2.2). Soweit notwendig erfolgte nach der numerischen FFT und der Phasenkorrektur eine Basislinienkorrektur in der direkten Dimension mit Hilfe des Programms base\_fast (Schweimer 2000, Abschnitt 4.3), das auf einem modellfreien Algorithmus zur Bestimmung der Basislinie basiert (Friedrichs 1995).

Zur Prozessierung der dreidimensionalen Spektren dienten die in Schweimer 2000, Abschnitt 4.3 beschriebenen Computerprogramme process\_f1f3 und process\_f2. Auch bei die-

sen Experimenten wurde meist einfaches Zero-Filling und eine um 60° bis 90° verschobene Sinusquadratfunktion als Filterfunktion eingesetzt; zusätzlich wurde der FID meist in einer der indirekten heteronuklearen <sup>13</sup>C- oder <sup>15</sup>N-Dimensionen durch Linear Prediction (Barkhuijsen et al. 1985) bzw. bei Constant-Time-Evolution durch Mirror Image Linear Prediction (Zhu und Bax 1990) extrapoliert, um die digitale Auflösung weiter zu erhöhen (Schweimer 1997, Abschnitt 2.3). Das wegen der starken Drift des statischen Magnetfeldes des DMX750 NMR-Spektrometers in den Stunden nach der Ergänzung der Kryoflüssigkeiten und wegen des Verzichts auf Gradienten entlang des magischen Winkels (Abschnitt 3.1.2) entstandene t<sub>1</sub>-Rauschen entlang der H<sub>2</sub>O-Resonanz beim 3D-<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-NOESY-HSQC von Gly m 4 wurde durch spektrale Dekonvolution (Marion et al. 1989a) mit einer für die Verwendung bei einem dreidimensionalen, mit Oversampling und anschließender digitaler Filterung (Hull 1994, Abschnitt 2.6.3.4) aufgenommen Datensatz modifizierten Version von mov\_av\_window (Schweimer 1997) reduziert. Für die Basislinienkorrektur in der Aufnahmedimension wurde das Programm baseline\_f3 verwendet (Schweimer 2000, Abschnitt 4.3), das auf dem gleichen Algorithmus basiert wie base\_fast.

Zur graphischen Darstellung und Auswertung der Spektren dienten die Softwarepakete NDEE (SpinUp Inc., Dortmund) und NMRView 5.0.4 (Johnson und Blevins 1994).

# 3.1.5 Gewinnung der Strukturinformationen

### 3.1.5.1 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen

Die Proportionalität der Intensität von NOE-Kreuzresonanzen zur inversen sechsten Potenz des Abstands zweier wechselwirkenden Kernspins ermöglicht die experimentelle Bestimmung dieses Abstandes anhand von NOESY-Experimenten. Da die direkte Umsetzung der Intensität in den Abstand wegen des Einflusses weiterer Kernspins in der Umgebung (Spindiffusion; Hull und Sykes 1975) sowie anderer dynamischer Effekte (z. B. chemischer Austausch, intramolekulare Bewegung) keine sehr zuverlässigen Ergebnisse liefert, beschränkt man sich in der Praxis üblicherweise darauf, den Abstand auf ein gewisses Intervall einzugrenzen. In dieser Arbeit wurden die beobachteten NOEs nach ihrer Stärke in drei Klassen eingeteilt:

- a) stark: Abstand maximal 2,7 Å
- b) mittel: Abstand maximal 3,5 Å
- c) schwach: Abstand maximal 5,0 Å

Der NOE zwischen zwei weiter als 5,0 Å entfernten Kernspins ist erfahrungsgemäß zu schwach, um experimentell beobachtet zu werden.

Den in die Berechnung der Strukturen eingegangenen Spin-Spin-Abstandsbeschränkungen liegen vorwiegend NOE-Kreuzresonanzen aus dem 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC zugrunde (siehe Tab. 3.1). Dazu wurden zunächst alle in diesem Spektrum vorhandenen Resonanzen mit Hilfe der Peakpick-Funktion von NMRView 5.0.4 (Johnson und Blevins 1994) identifiziert. Die daraus erhaltene Liste aller Resonanzen wurde dann mit Hilfe des Programms AssignNOE (Schweimer 2000) analysiert, das anhand eines Vergleichs der chemischen Verschiebung jeder Resonanz mit den im Zuge der sequentiellen Zuordnung gefundenen chemischen Verschiebungen alle für diese Resonanz in Frage kommenden Paare von Kernspins auflistete. Gegen Ende der NOE-Suche, als bereits einigermaßen zuverlässige Teststrukturen berechnet werden konnten, wurde die Liste möglicher Wechselwirkungspartner weiter gefiltert, indem nur solche Kernspinpaare berücksichtigt wurden, deren Abstand in der Teststruktur maximal 10,0 Å betrug.

Wegen der Größe von Pru av 1 E45W, Gly m 4 und Bet v 4 und der daraus resultierenden hohen Frequenzdegeneration der <sup>1</sup>H-Resonanzen genügte dies jedoch nur selten, um die Wechselwirkungspartner eindeutig zu identifizieren. Daher mussten die für die Strukturberechnung verwendeten Abstandsbeschränkungen letztendlich von Hand herausgesucht werden, wobei die Ausgabe von AssignNOE als Vorschlagskatalog diente. Mehrdeutigkeiten wurden dabei soweit wie möglich in einem iterativen Prozess nach folgenden Kriterien aufgelöst:

- a) Güte der Übereinstimmung der chemischen Verschiebungen
- b) Existenz der Kreuzresonanz im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N/<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HMQC-NOESY-HSQC bei einem NOE vom Typ  $N - H \rightarrow H - N$  bzw. im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C/<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HMQC-NOESY-HSQC bei einem NOE vom Typ  $C - H \rightarrow H - N$
- c) Existenz einer symmetriebezogenen Kreuzresonanz (d. h. Existenz einer Kreuzresonanz  $S \rightarrow I$  zur Kreuzresonanz  $I \rightarrow S$ ) im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC bei einem NOE vom Typ  $N-H \rightarrow H-N$  bzw. im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-NOESY-HSQC bei einem NOE vom Typ  $C-H \rightarrow H-N$

d) Verträglichkeit der Abstandsbeschränkung mit Teststrukturen, soweit bereits vorhanden Zur Klassifizierung in starke, mittlere und schwache NOEs wurde die Intensität jeder Kreuzresonanz auf die Intensität der zugehörigen Resonanz im <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC normiert. Als Anhaltspunkte für die Festlegung der Schwellenwerte für die anschließende Klassifizierung dienten dann die ersten gefundenen sekundärstrukturtypischen Kreuzresonanzen, insbesondere sequentielle  $H \alpha \rightarrow HN$  in  $\beta$ -Faltblattsträngen mit einem typischen Abstand von 2,2 Å, sequentielle  $HN \rightarrow HN$  in  $\alpha$ -Helices mit einem typischen Abstand von 2,8 Å sowie sequentielle  $H \alpha \rightarrow HN$  in  $\alpha$ -Helices mit einem typischen Abstand von 3,5 Å (Wüthrich 1986, Abschnitt 7.4). Wenn notwendig wurden die NOEs von Hand nachklassifiziert, etwa bei überlappenden Resonanzen oder bei Grenzfällen.

Das 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC ist zwar vergleichsweise sensitiv und hat von allen in Tab. 3.1 aufgeführten NOESY-Spektren die beste Dispersion, so dass es sich als Quelle für die Suche von NOE-Kreuzresonanzen relativ großer Proteine wie Pru av 1 E45W, Gly m 4 und holo Bet v 4 sehr gut eignet; es ist jedoch grundsätzlich auf NOEs beschränkt, bei denen wenigstens einer der Wechselwirkungspartner an einen <sup>15</sup>N-Kern gebunden ist. Da hydrophobe Aminosäureseitenketten dazu neigen, im Inneren des Proteins einen hydrophoben Kern zu bilden, und an dieser Stelle folglich wenige solche <sup>15</sup>N-Kerne zur Verfügung stehen, müssen für eine gute NMR-Struktur weitere NOESY-Spektren mit herangezogen werden. In die Berechnung der Struktur von holo Bet v 4 gingen aus diesem Grund vereinzelte Abstandsbeschränkungen aus dem 3D-<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-NOESY-HSQC ein, allesamt manuell identifiziert und klassifiziert.

Als sehr hilfreich erwies sich auch wie schon bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) das <sup>15</sup>N-gefilterte 2D-NOESY bei Pru av 1 E45W bzw. das 2D-NOESY in D<sub>2</sub>O bei Gly m 4 und holo Bet v 4. Da die Amidresonanzen durch die Filterung bzw. den Austausch mit dem D<sub>2</sub>O unterdrückt sind, verbleiben im entsprechenden Spektralbereich von etwa 6 *ppm* bis 11 *ppm* lediglich die Protonenresonanzen der aromatischen Seitenketten, die zusammen mit den aliphatischen Seitenketten besonders stark zur Bildung hydrophober Kerne beitragen. Aus diesem Spektrum konnte daher eine ganze Reihe von für die Strukturberechnung wichtigen Abstandsbeschränkungen gewonnen werden, die von Hand gesammelt und klassifiziert wurden.

# 3.1.5.2 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten

Wegen der Abhängigkeit der Austauschwechselwirkung von der Bindungsgeometrie trägt auch die Größe der skalaren Kopplungskonstante eine Strukturinformation. Aus Berechnungen ab initio sowie Messungen an Modellsystemen ist bekannt, dass die vicinale Kopplungskonstante über drei Bindungen gemäß

$${}^{3}J_{HNH\alpha} = 6,4 Hz \cdot \cos^{2}(\Phi - 60^{\circ}) - 1,4 Hz \cdot \cos(\Phi - 60^{\circ}) + 1,9 Hz$$
(3.1)

vom Torsionswinkel  $\Phi$  des Proteinrückgrats abhängt (Karplus 1959; Pardi et al. 1984). Diese so genannte Karplus-Beziehung ist in Abb. 3.1 graphisch dargestellt. Bei der Umsetzung einer gemessenen Kopplungskonstante in eine Beschränkung des Diederwinkels  $\Phi$  für die Strukturberechnung stößt man allerdings auf zwei Schwierigkeiten: Erstens ist die Zuordnung nicht eindeutig, d. h. es existieren Werte von  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ , die für mehr als eine Konformation  $\Phi$  des Proteinrückgrats angenommen werden, wie in Abb. 3.1 deutlich zu erkennen; die Tatsache, dass manche Konformationen sterisch bevorzugt sind, ermöglicht es jedoch häufig, die tatsächliche Konformation herauszufinden. Zweitens beobachtet man in Regionen hoher Flexibilität des Proteinrückgrats eine Mittelung der Kopplungskonstante über die Werte mehrerer verschiedener Konformationen (Cavanagh et al. 1996, Abschnitt 8.2.1), so dass die Messung einer Kopplungskonstante <sup>3</sup> $J_{HNH\alpha}$  von etwa 7 Hz recht wenig über die Struktur des Proteinrückgrats an dieser Stelle aussagt. Aus diesen Gründen wurden für die Strukturberechnung nur solche Kopplungskonstanten verwertet, die entweder kleiner als 6,0 Hz oder größer als 8,0 Hz sind, und zwar in Form folgender Winkelbeschränkungen:

a)  ${}^{3}J_{HNH\alpha} \le 6.0 Hz \implies -80^{\circ} \le \Phi \le -40^{\circ}$  (typisch für  $\alpha$ -helikale Bereiche)

b)  ${}^{3}J_{HNH\alpha} \ge 8.0 Hz \implies -160^{\circ} \le \Phi \le -80^{\circ}$  (typisch für  $\beta$ -Faltblattstränge)



Abb. 3.1 Abhängigkeit der skalaren Kopplungskonstante  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  vom Diederwinkel  $\Phi$  gemäß der Karplus-Beziehung (3.1).

Zur Messung der Kopplungskonstanten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  dienten die HNHA-Experimente von Tab. 3.1 (Vuister und Bax 1993; Zhang et al. 1997). Eine Analyse dieses Experiments im Produktoperator-Formalismus (siehe Cavanagh et al. 1996, Abschnitt 7.5.2) liefert für das Verhältnis der Intensitäten von Kreuz- und Diagonalresonanz folgenden Ausdruck:

$$\frac{I_c}{I_d} = -\tan^2\left(2\,\pi\cdot^3 J_{HNH\,\alpha}\delta\right) \tag{3.2}$$

wobei δ die Länge des für den Kohärenztransfer von HN zu Hα zur Verfügung stehenden Intervalls bezeichnet, in unserem Fall  $\delta = 12,3 \, ms$ . Dabei ist jedoch zu beachten, dass bei Rechnungen im Produktoperator-Formalismus die Relaxationsprozesse vernachlässigt werden. Da die beiden Kohärenztransferwege, die zur Kreuzresonanz bzw. zur Diagonalresonanz führen, teilweise ein unterschiedliches Relaxationsverhalten aufweisen, muss (3.2) entsprechend modifiziert werden (siehe Cavanagh et al. 1996, Abschnitt 7.5.2). Aus Untersuchungen an Modellsystemen ist bekannt, dass der tatsächliche Wert der Kopplungskonstante  ${}^{3}J_{HNH \alpha}$ bei einem Molekül der Größe von holo Bet v 4 etwa 5 % und von Pru av 1 E45W und Gly m 4 etwa 10 % über dem sich aus (3.2) ergebenden Wert liegt (Vuister und Bax 1993; Kuboniwa et al. 1994; Düx et al. 1997). Angesichts der doch recht konservativen Umsetzung der Kopplungskonstanten in Winkelbeschränkungen für die Strukturberechnung erschien die Genauigkeit einer pauschalen solchen Korrektur mit einem Faktor C := 1,05 bei holo Bet v 4 bzw. C := 1,10 bei Pru av 1 E45W und Gly m 4 durchaus ausreichend für die Zwecke dieser Arbeit. Insgesamt also wurden die Kopplungskonstanten folgendermaßen aus dem Verhältnis der Intensitäten von Kreuz- und Diagonalresonanzen im HNHA-Spektrum berechnet:

$${}^{3}J_{HNH\alpha} = C \cdot \frac{1}{2\pi \cdot 12,3\,ms} \arctan \sqrt{-\frac{I_{c}}{I_{d}}}$$
(3.3)

#### 3.1.5.3 Identifizierung von Wasserstoffbrücken

Die häufigste Ursache für eine im Vergleich zu unstrukturierten Peptiden stark verminderte Rate des chemischen Austauschs eines Amidprotons mit den Protonen des Lösungsmittels ist die Beteiligung dieses Amidprotons an der Bildung einer Wasserstoffbrückenbindung (Wüthrich 1986, Abschnitt 9.3). Um eine solche Information in Form einer Abstandsbeschränkung für die Berechnung der Struktur des jeweiligen Proteins nutzen zu können, muss allerdings auch der Akzeptor dieser Wasserstoffbrückenbindung bekannt sein. Zwar existieren NMR-Experimente, mit denen sich unter Ausnutzung der skalaren Kopplung über die Wasserstoffbrücke der Bindungspartner des Amidprotons direkt bestimmen lässt (Cordier und Grzesiek 1999; Cornilescu et al. 1999); die kurzen Relaxationszeiten bei einem relativ großen Protein wie Pru av 1 E45W und Gly m 4 erschweren die tatsächliche Beobachtung dieser nur sehr schwachen skalaren Kopplung ( ${}^{3h}J_{NCO} < 1 Hz$ ) im Experiment jedoch erheblich, so dass dieses Experiment nur an holo Bet v 4 (Probe I) durchgeführt wurde. Intraresiduale skalare Kopplungskonstanten  ${}^{2}J_{NCO}$  und bei Aspartaten  ${}^{3}J_{NCY}$  sowie interresiduale skalare Kopplungskonstanten  ${}^{3h}J_{NCO}$  über Wasserstoffbrücken wurden gemäß

$$|J| \approx \frac{1}{2\pi \cdot 66,5 \, ms} \sqrt{\frac{I_{lr} \cdot NS_{ref}}{I_{ref} \cdot NS_{lr}}}$$
(3.4)

aus dem Verhältnis der Intensitäten  $I_{lr}$  und  $I_{ref}$  in zwei entsprechend modifizierten H(N)CO-Spektren bei einer Temperatur von T = 298 K (Aufnahmeparameter:  $NS_{lr} = 384$ bzw.  $NS_{ref} = 96$  akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>13</sup>C-Dimension F1 150,93 MHz, spektrales Fenster in F1 1509,3 Hz, 64 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1, Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 600,13 MHz, spektrales Fenster in F2 8389,3 Hz, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der H<sub>2</sub>O-Resonanz durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit Water Flip-Back; Aufnahmedauer 36 h bzw. 9 h; Literaturverweis: Cordier und Grzesiek 1999; Grzesiek et al. 2001) mit bandselektiver heteronuklearer <sup>13</sup>C $\alpha$ -Entkopplung (Liu et al. 2000a; Liu et al. 2000b) berechnet. Das mit dieser Methode nicht bestimmbare Vorzeichen wurde bei den Kopplungskonstanten  ${}^{_{3h}}J_{_{NCO}}$  als negativ angenommen (Grzesiek et al. 2001), bei den Kopplungskonstanten  $^{2}J_{_{NCO}}$  als positiv und bei den Kopplungskonstanten  $^{3}J_{_{NCY}}$  als negativ, da die Kopplungskonstante  ${}^{1}J_{NCO} \approx -15 Hz$  wegen des negativen gyromagnetischen Verhältnisses von  ${}^{15}N$ -Kernen negativ ist und sich das Vorzeichen der skalaren Kopplungskonstante wegen des Pauli-Prinzips mit jeder weiteren <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C-Bindung umkehrt (siehe Neudecker 2000, Abschnitt 3.1.1.4). Ansonsten werden Abstandsbeschränkungen auf der Grundlage auf eine Wasserstoffbrückenbindung hinweisender langsam austauschender Amidprotonen meist erst in späten Stadien der Strukturberechnung einbezogen, wenn bereits hinreichend zuverlässige Teststrukturen vorliegen, die eine Identifizierung des jeweiligen Akzeptors ermöglichen (Brünger und Nilges 1993). Besonders einfach gestaltet sich diese Identifizierung dann bei Vorliegen regulärer Sekundärstrukturelemente, die ja wesentlich durch regelmäßig angeordnete Wasserstoffbrücken stabilisiert werden (Wüthrich 1986, Abschnitt 7.4).

Zur experimentellen Bestimmung der langsam austauschenden Amidprotonen von holo Bet v 4 wurden wie bereits beschrieben (Nerkamp 2002, Abschnitt 3.7.3) 1 *h*, 3 *h* und 18 *h* nach dem Lösen von 1,2 *mM* lyophilisiertem einfach markiertem Bet v 4 in einer wässrigen 10 *mM* Natriumacetat-Lösung (pH = 6,0) in 100 % D<sub>2</sub>O mit 25 *mM* CaCl<sub>2</sub> für die holo-Form bei einer Temperatur von T = 298 K drei <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektren aufgenommen (Aufnahmeparameter: 16 akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 40,55 *MHz*, spektrales Fenster in F1 811,0 *Hz*, 128 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1, Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 400,13 *MHz*, spektrales Fenster in F2 5592,8 *Hz*, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der HDO- Resonanz durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit Water Flip-Back; Aufnahmedauer jeweils 2h; Literaturverweis: Mori et al. 1995).

Amidprotonen, deren Resonanzen in diesen drei Spektren noch sichtbar waren und die folglich nach dieser vergleichsweise langen Zeit noch nicht mit den Deuteronen des Lösungsmittels ausgetauscht hatten, wurden als langsam austauschend eingestuft und anhand von Teststrukturen auf eine mögliche Einbindung in eine Wasserstoffbrückenbindung hin untersucht. Wenn eine Analyse dieser Teststrukturen tatsächlich eine Wasserstoffbrücke erwarten ließ und der Akzeptor eindeutig identifiziert werden konnte, dann wurden folgende zwei Abstandsbeschränkungen eingeführt (Kraulis et al. 1989):

a) Abstand zwischen Amidproton und Akzeptor maximal 2,3 Å

b) Abstand zwischen Amidstickstoff und Akzeptor maximal 3,3Å

Anhand der endgültigen Strukturen wurde schließlich überprüft, ob diese Abstandsbeschränkungen erfüllt sind und ob der  $N - H \cdots O$ -Winkel der Wasserstoffbrücke mindestens 120° beträgt; dazu diente das X-PLOR-Protokoll h\_bond.inp (Sticht 1995, Abschnitt 5.6.6).

# 3.1.5.4 Dipolare Kopplungskonstanten

### 3.1.5.4.1 Theoretische Beschreibung

Wie in meiner Diplomarbeit bereits beschrieben (Neudecker 2000, Abschnitte 3.1.1.6 und 3.1.5) ist der die magnetische Dipol-Dipol-Wechselwirkung zweier Kernspins I und S mit den gyromagnetischen Verhältnissen  $\gamma_I$  und  $\gamma_S$  und dem Abstandsvektor  $\vec{r}_{IS}$  beschreibende symmetrische Tensor zweiter Stufe

$$\overline{\overline{D}}_{IS} \coloneqq \frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S}{4 \pi r_{IS}^3} \left( \overline{\overline{E}} - \frac{3 \overline{r_{IS}} \overline{r_{IS}}}{r_{IS}^2} \right)$$
(3.5)

 $(\vec{r}_{IS}\vec{r}_{IS})$  steht dabei für das dyadische Produkt oder Tensorprodukt) spurlos und damit rein anisotrop, so dass sie auf der Millisekundenzeitskala der Messung der chemischen Verschiebungen (Größenordung 1 Hz bis 10 kHz) durch die bei globulären Proteinen auf der Nanosekundenzeitskala ablaufende schnelle Rotationsdiffusion in isotroper Lösung in erster Ordnung herausgemittelt wird, d. h. die magnetische Dipol-Dipol-Wechselwirkung führt nicht zu einer Aufspaltung der Linien, sondern ausschließlich zu Relaxation (in zweiter Ordnung). Besitzt das Protein und damit auch der Abstandsvektor der beiden Kernspins  $\vec{r}_{IS}$  im statischen äußeren Magnetfeld  $\vec{B}_0$  jedoch eine schwache Vorzugorientierung, beispielsweise durch den eigenen Dia- (Tjandra et al. 1996) oder Paramagnetismus (Tolman et al. 1995) oder durch sterische (Zweckstetter und Bax 2000) oder elektrostatische (Zweckstetter und Bax 2001) Wechselwirkung mit einem durch dessen Dia- oder Paramagnetismus ausgerichteten flüssigkristallinen Kosolvent (Tjandra und Bax 1997; Bax et al. 2001), dann ist die zeitlich gemittelte dipolare Kopplungskonstante

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{8\pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} \langle 3\cos^2 \theta_{IS} - 1 \rangle$$
(3.6)

die man in erster Ordnung aus dem säkularen Anteil der heteronuklearen magnetischen Dipol-Dipol-Wechselwirkung erhält (Abragam, Abschnitt IV.II.A; Becker 2000, Abschnitt 7.2; Levitt 2001, Abschnitt 7.9), im Allgemeinen von Null verschieden und führt daher zu einer Dublett-Aufspaltung der Resonanzen von I und S.  $\theta_{IS}$  bezeichnet dabei den Polarwinkel zwischen dem Abstandsvektor der beiden Kernspins  $\vec{r}_{IS}$  und dem statischen äußeren Magnetfeld  $\vec{B}_0$ . Die voneinander unabhängige zeitliche Mittelung der dritten Potenz des Abstands der beiden Kernspins  $r_{is}^3$ des zweiten Legendre-Polynoms und  $P_2(\cos\theta_{IS}) = \frac{1}{2}(3\cos^2\theta_{IS} - 1)$  in (3.6) setzt zwei unkorrelierte Bewegungen voraus, was insbesondere bei dipolaren Kopplungskonstanten zwischen zwei durch lediglich eine kovalente Bindung getrennten Kernspins wie  $D_{NHN}$  gerechtfertigt erscheint, da die Vibrationsmoden der kovalenten Bindungen auf der sehr schnellen Zeitskala von etwa  $10^{-14} s$  (entsprechend einer Wellenzahl von etwa  $3000\frac{1}{cm}$ ) stattfinden (Emsley und Lindon 1975, Abschnitt 4.3.1). Trennt man die Bewegung des Abstandsvektors der beiden Kernspins  $\vec{r}_{IS}$  relativ zum statischen äußeren Magnetfeld  $\overrightarrow{B_0}$  ähnlich wie bei der Relaxation (Lipari und Szabo 1982a, Lipari und Szabo 1982b) mit Hilfe des Additionstheorems für die Legendre-Polynome (Rose 1957, Abschnitt 14) im Koordinatensystem des Abstandsvektors der beiden Kernspins  $\vec{r}_{IS}$ auf in die interne Rotationsbewegung des Abstandsvektors der beiden Kernspins  $\vec{r}_{IS}$  relativ zu seinem mittleren Abstandsvektor in einem durch das Molekül definierten Koordinatensystem (Polarwinkel  $\theta_e$ , Azimutwinkel  $\phi_e$ ) einerseits und die Rotationsbewegung dieses mittleren Abstandsvektors relativ zum statischen äußeren Magnetfeld  $\vec{B}_0$  (Polarwinkel  $\theta_m$ , Azimutwinkel  $\phi_m$ ) durch die globale Rotationsdiffusion des Moleküls anderseits, so erhält man

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{4 \pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} \left\langle \frac{4 \pi}{5} \sum_{m=-2}^2 Y_{2m}^*(\theta_e; \phi_e) Y_{2m}(\theta_m; \phi_m) \right\rangle$$
(3.7)

mit den Kugelflächenfunktionen  $Y_{lm}$ , bzw. unter der Annahme zweier unkorrelierter Bewegungen

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{4 \pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} \frac{4 \pi}{5} \sum_{m=-2}^{2} \langle Y_{2m}^*(\theta_e; \phi_e) \rangle \langle Y_{2m}(\theta_m; \phi_m) \rangle$$
(3.8)

Wegen der Axialsymmetrie der globalen Rotationsdiffusion des Moleküls relativ zum statischen äußeren Magnetfeld  $\overrightarrow{B}_0$  verschwinden bei der zeitlichen Mittelung alle Terme  $\langle Y_{2m}(\theta_m; \phi_m) \rangle$  mit  $m \neq 0$  (analog zu Lipari und Szabo 1980) und es bleibt

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{4 \pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} \frac{4 \pi}{5} \langle Y_{20}^* (\theta_e; \phi_e) \rangle \langle Y_{20} (\theta_m; \phi_m) \rangle$$
  
$$= -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{4 \pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} \langle P_2 (\cos \theta_e) \rangle \langle P_2 (\cos \theta_m) \rangle$$
(3.9)

Einführung des Ordnungsparameters der internen Bewegung  $S = \langle P_2(\cos \theta_e) \rangle$  (Lipari und Szabo, 1980; Tolman et al. 1997) liefert

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{8 \pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} S \langle 3 \cos^2 \theta_m - 1 \rangle$$
(3.10)

Zur zeitlichen Mittelung der globalen Rotationsdiffusion des Moleküls relativ zum statischen äußeren Magnetfeld  $\vec{B}_0$  erhält man durch Einführung des die Vorzugsorientierung des Moleküls relativ zum statischen äußeren Magnetfeld  $\vec{B}_0$  angebenden spurlosen symmetrischen Saupe-Orientierungstensors zweiter Stufe  $\overline{A}$  (Saupe und Englert 1963; Saupe 1964; Englert und Saupe 1964) nach kurzer Rechnung (Bax et al. 2001)

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{8\pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} S\left(A_{zz} \left(3\cos^2 \theta - 1\right) + \left(A_{xx} - A_{yy}\right)\sin^2 \theta \cos 2\phi\right)$$
(3.11)

wobei  $\theta$  bzw.  $\phi$  den Polarwinkel bzw. den Azimutwinkel des mittleren Abstandsvektors in dem durch das Molekül definierten Hauptachsensystem des spurlosen Saupe-Orientierungstensors  $\overline{A}$  bezeichnen. Dessen Eigenwerte  $A_{xx}$ ,  $A_{yy}$  und  $A_{zz}$  werden so gewählt, dass  $|A_{zz}| > |A_{yy}| > |A_{xx}|$ . Wenn die Abstandsvektoren aller betrachteten dipolaren Kopplungskonstanten näherungsweise den gleichen Ordnungsparameter der internen Bewegung *S* aufweisen, dann kann man den spurlosen symmetrischen Vorzugsorientierungstensor zweiter Stufe

$$\bar{\bar{D}} := -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_s}{4 \pi^2 \langle r_{IS}^3 \rangle} S \bar{\bar{A}}$$
(3.12)

einführen und erhält mit dessen Anisotropie  $D_a \coloneqq \frac{D_x}{2}$  und Rhombizität  $R \coloneqq \frac{2(D_{xx} - D_{yy})}{3D_x}$ 

$$D_{IS} = D_a \left( \left( 3\cos^2 \theta - 1 \right) + \frac{3}{2}R\sin^2 \theta \cos 2\phi \right)$$
(3.13)

Als Maß für die Übereinstimmung eines Satzes gemessener dipolarer Kopplungskonstanten *D* mit einer gegebenen Struktur verwendet man den Qualitätsfaktor

$$Q \coloneqq \sqrt{\frac{\sum_{i} \left( D_{i} - D_{a} \left( \left( 3\cos^{2}\theta_{i} - 1 \right) + \frac{3}{2}R\sin^{2}\theta_{i}\cos 2\phi_{i} \right) \right)^{2}}{\sum_{i} D_{i}^{2}}}$$
(3.14)

(Cornilescu et al. 1998; Bax et al. 2001), wobei über alle gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_i$  zu summieren ist. Die Anisotropie  $D_a$  und Rhombizität R des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  sowie die Orientierung seines Hauptachsensystems relativ zum Molekül werden dabei so gewählt, dass der Qualitätsfaktor Q seinen minimalen Wert annimmt (Tjandra et al. 1996), wozu in dieser Arbeit die einen linearen Least-Squares-Fit der 5 unabhängigen komplexen Komponenten  $D_{2m}$  ( $-2 \le m \le 2$ ) des Vorzugorientierungstensors  $\overline{D}$ in der irreduziblen sphärischen Darstellung (Rose 1957, Abschnitt 17) in Matlab 6.5.0.180913a Release 13 (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA) durchführende Prozedur linearfit.m (Sass et al. 1999) diente.

# 3.1.5.4.2 Experimentelle Bestimmung

Die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  von durch Zugabe von  $18 \frac{mg}{ml}$  filamentösen Pf1-Bakteriophagen (Hansen et al. 1998) der Firma Asla (Riga, Lettland) schwach ausgerichteten 0,7 mM [U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertem Gly m 4 in einer wässrigen 32 mM Kaliumphosphat-Lösung (pH = 7,0) mit 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 13 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock wurden aus der beobachteten Dublett-Aufspaltung in <sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N-IPAP-Spektren bei einer Temperatur von T = 298 K (Aufnahmeparameter: 32 akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 60,82 MHz, spektrales Fenster in F1 1824,5 Hz, 256 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1. Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 600,13 MHz, spektrales Fenster in F2 7183,9 Hz, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der H<sub>2</sub>O-Resonanz durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit Water Flip-Back; Aufnahmedauer 14 h; Literaturverweis: Ottiger et al. 1998) durch Subtraktion des aus Referenzspektren der nicht ausgerichteten Probe bestimmten Beitrags der skalaren Kopplungskonstante  ${}^{1}J_{NHN}$  erhalten. Das mit dieser Methode nicht bestimmbare Vorzeichen der skalaren Kopplungskonstanten  ${}^{1}J_{NHN}$  wurde wegen des negativen gyromagnetischen Verhältnisses von  ${}^{15}N$ -Kernen als negativ angenommen, wodurch auch das jeweilige Vorzeichen aller gemessenen dipolaren

Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  festlegt wird. Die elektrische Quadrupolaufspaltung der D<sub>2</sub>O-Resonanz betrug 14,85  $H_Z \pm 0,11 H_Z$ . Die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  wurden über drei unabhängige Messungen gemittelt. Die für die Strukturberechnung (Abschnitt 3.2.3.3) benötigten Werte für die Anisotropie  $D_a$  und die Rhombizität R des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  wurden aus den Extremwerten  $D_{N HN} (L151) = 17,94 Hz = 2 D_a$  und  $D_{N HN} (I70) = -9,71 Hz = -D_a (1 + \frac{3}{2}R)$  zu  $D_a = 9,0 Hz$  und R = 0,05 geschätzt (Clore et al. 1998b).

Auch die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  von durch Zugabe von  $11 \frac{mg}{ml}$  filamentösen Pf1-Bakteriophagen (Hansen et al. 1998) der Firma Asla (Riga, Lettland) schwach ausgerichteten 0,8 mM [U - 98 % <sup>15</sup>N]-markiertem Bet v 4 in einer wässrigen 20 mM Natriumacetat-Lösung (pH = 6,0) mit 2mM Kaliumphosphat, 2mM CaCl<sub>2</sub> für die holo-Form, 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 15 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock wurden aus der beobachteten Dublett-Aufspaltung in <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-IPAP-Spektren bei einer Temperatur von T = 298 K (Aufnahmeparameter: 32 akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 60.82 MHz, spektrales Fenster in F1 1216.4 Hz, 256 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1, Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 600,13 MHz, spektrales Fenster in F2 8389,3 Hz, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der H<sub>2</sub>O-Resonanz durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit Water Flip-Back; Aufnahmedauer 14 h; Literaturverweis: Ottiger et al. 1998) durch Subtraktion des aus Referenzspektren der nicht ausgerichteten Probe bestimmten Beitrags der skalaren Kopplungskonstante <sup>1</sup>J<sub>N HN</sub> erhalten. Das mit dieser Methode nicht bestimmbare Vorzeichen der skalaren Kopplungskonstanten  ${}^{1}J_{NHN}$  wurde wegen des negativen gyromagnetischen Verhältnisses von <sup>15</sup>N-Kernen wiederum als negativ angenommen, wodurch auch das jeweilige Vorzeichen aller gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  festlegt wird. Die elektrische Quadrupolaufspaltung der D<sub>2</sub>O-Resonanz betrug  $6.9 Hz \pm 0.9 Hz$ . Die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  wurden ebenfalls über drei unabhängige Messungen gemittelt. Die für die Strukturberechnung (Abschnitt 3.2.3.3) benötigten Werte für die Anisotropie  $D_a$  und die Rhombizität R des Vorzugsorientierungstensors  $D_{NHN}(E12) = -25,46 Hz = 2 D_{a}$  $\bar{\bar{D}}$ Extremwerten wurden aus den und  $D_{NHN}(G24) = 19,83 Hz = -D_a(1 + \frac{3}{2}R)$  zu  $D_a = -12,7 Hz$  und R = 0,37 geschätzt (Clore et al. 1998b).

# **3.1.5.5 Heteronukleare NOEs**

Die heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N NOEs (Kay et al. 1989) von 0.8 mM [U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertem 10 *mM* Kaliumphosphat-Lösung (pH = 7.0) mit Pru av 1 wt in einer wässrigen 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 10 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock wurden aus den Intensitäten der Amidresonanzen nach <sup>1</sup>H-Sättigung bei einer Temperatur von T = 308 K (Aufnahmeparameter: 128 akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 60,82 MHz, spektrales Fenster in F1 1557,0 Hz, 128 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1, Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 600,13 MHz, spektrales Fenster in F2 7788,2 Hz, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der H2O-Resonanz durch Kohärenzselektion mit gepulsten Feldgradienten entlang der longitudinalen Raumachse; Aufnahmedauer 41 h; Literaturverweis: Dayie und Wagner 1994) durch Division durch die entsprechenden Intensitäten in einem Referenzspektrum ohne <sup>1</sup>H-Sättigung erhalten. Zur <sup>1</sup>H-Sättigung diente eine Sequenz von 120°-Pulsen hoher Leistung während der letzten 3,00 s des Wiederholungsintervalls von 4,00 s. Die heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N NOEs wurden durch einen allgemeinen Skalierungsfaktor zur Berücksichtigung des durch geringfügiges Ausfallen des Proteins im Laufe der Messungen sowie durch unvollständige longitudinale Relaxation der <sup>1</sup>H-Kerne (Grzesiek und Bax 1993c) hervorgerufenen leichten Signalverlustes korrigiert und anschließend über zwei unabhängige Messungen gemittelt. Die Ungenauigkeit dieses Korrekturfaktors wurde bei der Berechnung der Messfehler berücksichtigt.

# 3.1.5.6 Untersuchung der Wechselwirkung von Pru av 1 wt mit Steroiden

Ein <sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N-HSQC-Referenzspektrum von 0,8 *mM* [U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertem Pru av 1 wt in einer wässrigen 10 *mM* Kaliumphosphat-Lösung (pH = 7,0) mit 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 10 % (v/v) DMSO-d<sub>6</sub> für den Feldfrequenz-Lock bei einer Temperatur von T = 308 K (Aufnahmeparameter: 16 akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 60,82 *MHz*, spektrales Fenster in F1 1557,0 *Hz*, 128 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1, Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 600,13 *MHz*, spektrales Fenster in F2 7788,2 *Hz*, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der H<sub>2</sub>O-Resonanz durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit Water Flip-Back; Aufnahmedauer 1 *h*; Literaturverweis: Mori et al. 1995) war so gut wie identisch mit den <sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N-HSQC-Spektren von Pru av 1 wt ohne DMSO. Anschließend wurden 10 *mg* 28-Homocastasteron der Firma CIDtech Research Inc. (Cambridge, ON, Kanada) in 1 *ml* DMSO-d<sub>6</sub> gelöst und von 0,8 *mM* [U - 99 % <sup>15</sup>N]-markiertem Pru av 1 wt und 2,1 *mM* 28-Homocastasteron in einer wässrigen 10 *mM* Kaliumphosphat-Lösung (pH = 7,0) mit 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 10 % (v/v) DMSO-d<sub>6</sub> für den Feldfrequenz-Lock bei einer Temperatur von T = 308 K erneut ein <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum aufgenommen (Aufnahmeparameter: 64 akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 60,82 *MHz*, spektrales Fenster in F1 1557,0 *Hz*, 128 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1, Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 600,13 *MHz*, spektrales Fenster in F2 7788,2 *Hz*, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der H<sub>2</sub>O-Resonanz durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit Water Flip-Back; Aufnahmedauer 6 *h*; Literaturverweis: Mori et al. 1995). Der sich wegen der Hydrophobizität von 28-Homocastasteron gebildete deutliche Bodensatz zeigte jedoch, dass die tatsächliche Konzentration an 28-Homocastasteron und vielleicht auch an Pru av 1 wt in Lösung niedriger war, so dass das während der Messung vorgelegene Konzentrationsverhältnis unbekannt ist.

Zusätzlich wurden  $500 \mu l$   $213 \mu M$  Pru av 1 wt in einer wässrigen 10 mM Kaliumphosphat-Lösung (pH = 7,0) mit 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls,  $20 \mu M$ DSS für die Referenzierung der chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne und 10 % (v/v)  $D_2O$  für den Feldfrequenz-Lock in 12 Schritten mit jeweils  $10,7 \mu l$  einer Stammlösung von 2,0 mM des weniger hydrophoben Steroids Natriumdesoxycholat im gleichen Puffer bis zu einem Konzentrationsverhältnis von 12:5 titriert und in zwei weiteren Schritten mit 12,8 µ l bzw.  $21,3 \mu l$  einer Stammlösung von  $5,0 \, mM$  Natriumdesoxycholat im gleichen Puffer bis zu einem Konzentrationsverhältnis von 3:1 bzw. 4:1. Davon wurden bei einer Temperatur von T = 298 K jeweils 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren mit 8192 komplexen Datenpunkten bei einem spektralen Fenster von 9615,4 Hz bei 600,13 MHz aufgenommen. Zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses wurden jeweils 1024 FIDs mit einem Wiederholungsintervall von 1,50 s akkumuliert. Anschließend wurde diese Probe mit weiteren  $17,0 \mu l$  einer wässrigen 100 mM Natriumdesoxycholat-Lösung bis zu einem Konzentrationsverhältnis von 20:1 titriert und davon sowie zum Vergleich auch von 0,3 mM Natriumdesoxycholat in einer wässrigen 10 mM Kaliumphosphat-Lösung (pH = 7.0) mit 10 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock, von  $20 \, mM$  Natriumdesoxycholat mit  $100 \, \mu M$  DSS für die Referenzierung der chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne und 60 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock und von  $10 \, mM$  Natriumdesoxycholat mit  $50 \, \mu M$  DSS für die Referenzierung der chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne und 80 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock bei einer Temperatur von T = 298 K jeweils 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren mit 16384 komplexen Datenpunkten bei einem spektralen Fenster von 9615,4 Hz bei 600,13 MHz aufgenommen. Zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses wurden jeweils 1024 FIDs mit einem Wiederholungsintervall von 1,50 *s* akkumuliert. Bei der Prozessierung dieser vier Spektren wurde zur Steigerung der Auflösung abweichend von den Angaben in Abschnitt 3.1.4 wegen der doppelt so langen Aufnahmezeit eine Exponentialfunktion mit einer Linienverbreiterung von nur 1 Hz (FWHM) verwendet.

# 3.1.5.7 Untersuchung der Bindung von Calcium an Bet v 4

Zunächst wurde von 0,7 mM [U - 98 % <sup>15</sup>N]-markiertem Bet v 4 in einer wässrigen 20 mM Natriumacetat-Lösung (pH = 6,0) mit 2 mM EDTA für die apo-Form, 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls und 10 % (v/v) D<sub>2</sub>O für den Feldfrequenz-Lock bei einer Temperatur von T = 298 K ein 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum mit heteronuklearer Breitband-15N-Composite-Pulse-Entkopplung mit 4096 komplexen Datenpunkten bei einem spektralen Fenster von 6410,3 Hz bei 400,13 MHz aufgenommen. Zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses wurden jeweils 256 FIDs mit einem Wiederholungsintervall von 3,00 s akkumuliert. Zusätzlich wurde davon ein <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum aufgenommen (Aufnahmeparameter: 48 akkumulierte FIDs, Senderfrequenz in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 40,55 MHz, spektrales Fenster in F1 811,0 Hz, 128 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F1, Senderfrequenz in der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 400,13 MHz, spektrales Fenster in F2 4789,3 Hz, 1024 aufgenommene komplexe Datenpunkte in F2, Unterdrückung der H<sub>2</sub>O-Resonanz durch eine 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit Water Flip-Back; Aufnahmedauer 6h; Literaturverweis: Mori et al. 1995). Anschließend wurden der Probe  $25 \, mM$  CaCl<sub>2</sub> für die holo-Form zugesetzt und nach mehreren Stunden bei einer Temperatur von T = 298 K erneut ein 1D-1H-NMR-Spektrum mit heteronuklearer Breitband-15N-Composite-Pulse-Entkopplung und ein <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum mit jeweils den gleichen Aufnahmeparametern wie oben aufgenommen. Unmittelbar danach wurde die Probe im Avance400 NMR-Spektrometer mit Hilfe des AU-Programms multi\_zgvt mit einer Geschwindigkeit von  $3\frac{K}{min}$  auf T = 333 K aufgeheizt, nach einem Temperaturstabilisierungsintervall von 10 min erneut ein 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum mit heteronuklearer Breitband-<sup>15</sup>N-Composite-Pulse-Entkopplung und ein <sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum mit jeweils den gleichen Aufnahmeparametern wie oben aufgenommen, mit einer Geschwindigkeit von  $3\frac{K}{min}$  wieder auf T = 298 K abgekühlt und schließlich nach einem Temperaturstabilisierungsintervall von 10 min erneut ein 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum mit heteronuklearer Breitband-<sup>15</sup>N-Composite-Pulse-Entkopplung und ein <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum mit jeweils den gleichen Aufnahmeparametern wie oben aufgenommen.

# 3.1.5.8 Hydrodynamische Radien aus der Translationsdiffusion

Zur Messung des hydrodynamischen Radius wurden von 0,6 mM Bet v 4 in einer wässrigen 20 mM Natriumacetat-Lösung (pH = 6.0) in 100 % D<sub>2</sub>O mit 0.5 % (v/v) Dioxan, 25 mM CaCl<sub>2</sub> für die holo-Form und 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls sowie von  $0.9 \, mM$  Bet v 4 in einer wässrigen  $20 \, mM$  Natriumacetat-Lösung (pH = 6.0) in 100 % D<sub>2</sub>O mit 0,5 % (v/v) Dioxan und 0,02 % (w/v) NaN<sub>3</sub> zur Verhinderung mikrobiellen Befalls nach einer Dialyse gegen eine wässrige  $20 \, mM$  Natriumacetat-Lösung (pH = 6.0) mit 5 mM EDTA für die apo-Form gefolgt von einer Dialyse gegen eine wässrige 20 mM Natriumacetat-Lösung (pH = 6,0) zur Entfernung des EDTA, das wie auch EGTA störende <sup>1</sup>H-Resonanzen in der Nähe der <sup>1</sup>H-Resonanz von Dioxan (3,77 ppm) aufweist, jeweils bei einer Temperatur von T = 298 K für 18 verschiedene 1D-<sup>1</sup>H-PG-SLED-NMR-Spektren (Jones et al. 1997) mit zwei 7,0 ms langen sinusförmigen Gradienten entlang der longitudinalen Raumachse der relativen Stärke G<sub>rel</sub> von 5,00 %, 10,00 %, 15,00 %, 20,00 %, 25,00 %, 30,00%, 35,00%, 40,00%, 45,00%, 50,00%, 56,25%, 62,50%, 68,75%, 75,00%, 81,25 %, 87,50 %, 93,75 % bzw. 100,00 % nach schwacher Vorsättigung der HDO-Resonanz jeweils 8192 komplexe Datenpunkte bei einem spektralen Fenster von 6410,3 Hz bei 400,13 MHz aufgenommen. Zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses wurden jeweils 128 FIDs mit einem Wiederholungsintervall von 1,25 s akkumuliert. Das Translationsdiffusionsintervall wurde mit  $\tau = 70 ms$  so gewählt, dass die <sup>1</sup>H-Resonanz von Dioxan bei einer relativen Gradientenstärke von  $G_{rel} = 50,00\%$  gerade nicht mehr detektierbar war, um gleichzeitig sowohl den gaußförmigen Abfall der Intensität der <sup>1</sup>H-Resonanzen der Referenzsubstanz Dioxan mit der relativen Gradientenstärke  $G_{rel}$  (Slichter 1990, Anhang G) als auch den weniger steilen gaußförmigen Abfall der Intensität der <sup>1</sup>H-Resonanzen des Proteins mit jeweils einer ausreichenden Anzahl aussagekräftiger Datenpunkte verfolgen zu können. Zur Auswerung wurden in Matlab 6.5.0.180913a Release 13 (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA) zunächst aus der von 0,05 ppm bei holo Bet v 4 bzw. 0,40 ppm bei apo Bet v 4 bis 1,25 ppm integrierten Intensität der <sup>1</sup>H-Methylgruppenresonanzen des Proteins

$$I_{methyl}(G_{rel}) = I_{methyl}(0) e^{-d_{protein}G_{rel}^2}$$
(3.15)

durch einen nichtlinearen 2-Parameter-Fit die Konstante  $I_{methyl}(0)$  und die relative Translationsdiffusionskonstante des Proteins  $d_{protein}$  bestimmt, und anschließend aus der von 3,50 ppm bis 4,10 ppm integrierten Intensität der <sup>1</sup>H-Resonanzen von Dioxan und Protein

$$I_{all}(G_{rel}) = I_{ref}(0) e^{-d_{ref}G_{rel}^{2}} + I_{protein}(0) e^{-d_{protein}G_{rel}^{2}}$$
(3.16)

durch einen nichtlinearen 3-Parameter-Fit die Konstanten  $I_{ref}(0)$  sowie  $I_{protein}(0)$  und die relative Translationsdiffusionskonstante von Dioxan  $d_{ref}$ . Wegen der indirekten Proportionalität von Translationsdiffusionskonstante in einer Lösung der Viskosität  $\eta$  und hydrodynamischem Radius  $r_h$  gemäß der Stokes-Einstein-Gleichung (Cantor und Schimmel, 1980, Abschnitt 10-3; van Holde et al. 1998, Abschnitt 5.2.1)

$$d \propto D = \frac{k_B T}{6\pi \eta r_h} \tag{3.17}$$

mit der Boltzmann-Konstante  $k_B$  ergibt sich der hydrodynamische Radius des Proteins zu

$$r_{h}^{\text{protein}} = \frac{d_{\text{ref}}}{d_{\text{protein}}} r_{h}^{\text{ref}}$$
(3.18)

wobei für der hydrodynamische Radius von Dioxan ein Wert von  $r_h^{ref} = 2,12 \text{ Å}$  angenommen wurde (Wilkins et al. 1999). Der hydrodynamische Radius  $r_h^{protein}$  wurde schließlich über fünf unabhängige Messungen gemittelt. Schätzt man die hydrodynamischen Radien eines nativen bzw. eines denaturierten Proteins bestehend aus N Aminosäuren  $r_h^{nat}$  bzw.  $r_h^{denat}$  aus den empirischen Beziehungen

$$r_{h}^{nat} = (4,75 \text{ \AA} \pm 0,48 \text{ \AA}) N^{(0,29 \pm 0,02)}$$
(3.19)

$$r_{h}^{denat} = (2,21 \text{ \AA} \pm 0,15 \text{ \AA}) N^{(0.57 \pm 0,02)}$$
(3.20)

ab, so lässt sich damit der Kompaktheitsgrad des Proteins

$$C \coloneqq \frac{r_h^{denat} - r_h^{protein}}{r_h^{denat} - r_h^{nat}}$$
(3.21)

definieren (Wilkins et al. 1999).

### 3.1.5.9 Analyse der Sekundärstruktur nach Wishart

Die chemische Umgebung eines Kerns, der Teil des Proteinrückgrats ist oder unmittelbar an ein Atom des Proteinrückgrats gebunden ist, wird wesentlich durch die Sekundärstruktur an der entsprechenden Stelle beeinflusst, da diese die Bindungsgeometrie des Rückgrats bestimmt. Daher erwartet man eine Korrelation der isotropen chemischen Verschiebungen solcher Kerne mit der Sekundärstruktur. Aus experimentellen Daten ist bekannt, dass die chemischen Verschiebungen von in  $\alpha$ -helikalen Bereichen liegenden H $\alpha$ -Resonanzen im Vergleich zu den bei unstrukturierten Peptiden gemessenen eine Tendenz zu höherem Feld (d. h. zu kleineren *ppm*-Werten) zeigen, die sich in  $\beta$ -Faltblattsträngen befindlichen hingegen eine Tendenz zu tieferem Feld (d. h. zu größeren *ppm*-Werten); für die chemischen Verschiebungen der C $\alpha$ - sowie der CO-Resonanzen findet man gerade die entgegengesetzten Tendenzen (Wishart und Sykes 1994).

Daraus folgt unmittelbar, dass eine Kenntnis der chemischen Verschiebungen dieser Kerne zur Analyse der Sekundärstruktur verwendet werden kann. Zunächst berechnet man dazu die Differenz  $\Delta \delta := \delta - \delta_{rc}$  der gemessenen chemischen Verschiebung eines Kerns  $\delta$  und der chemischen Verschiebung solcher Kerne in unstrukturierten Peptiden  $\delta_{rc}$  (Wishart et al. 1995). Ist diese Differenz größer als eine bestimmte positive Toleranz, so weist man dem entsprechenden Kern den chemischen Verschiebungsindex CSI := +1 bei einem H $\alpha$ -Kern bzw. CSI := -1 bei einem C $\alpha$ - oder CO-Kern zu; ist sie dagegen kleiner als eine gewisse negative Toleranz, dann erhält er den Index CSI := -1 bzw. CSI := +1. Ein Kern, dessen Resonanz nicht zugeordnet werden kann oder bei dem die Differenz  $\Delta \delta$  innerhalb der Toleranzen liegt, bekommt den Index CSI := 0. In dieser Arbeit wurden folgende Toleranzen verwendet:

a) H $\alpha$ -Resonanzen: +0,1 ppm und -0,1 ppm

b) C $\alpha$ -Resonanzen: +0,8 ppm und -0,5 ppm

c) CO-Resonanzen: +0.5 ppm und -0.5 ppm

Um die Zuverlässigkeit zu erhöhen, wurden die drei chemischen Verschiebungsindices jeder Aminosäure zu einem Konsensus-Index zusammengefasst: Dieser wurde auf +1 gesetzt, wenn die Summe der drei einzelnen Indices mindestens +2 betrug, und auf -1, wenn die Summe höchstens -2 ergab. Bei Auftreten eines Konsensus-Indices von +1 an mindestens 4 aufeinander folgenden Sequenzpositionen wurde schließlich ein  $\alpha$ -helikaler Bereich angenommen, wohingegen mindestens 3 sequentiell benachbarte Aminosäuren mit einem Konsensus-Index von -1 als Indiz für das Vorliegen eines  $\beta$ -Faltblattstrangs gewertet wurden. Nebenbei bemerkt werden durch eine solche gleichzeitige Betrachtung mehrerer Konsensus-Indizes auch Verfälschungen der Sekundärstrukturanalyse durch den Einfluss anderer Effekte (insbesondere von Ringstromeffekten in der Nähe liegender aromatischer Seitenketten mit ihren leicht polarisierbaren  $\pi$ -Elektronenwolken sowie von Polarisationseffekten elektrisch geladener Seitenketten in der Umgebung; Clore und Gronenborn 1998) auf die Werte der chemischen Verschiebung und somit auch auf die chemischen Verschiebungsindices minimiert.

# 3.2 Strukturberechnung mit Hilfe der Moleküldynamik

### 3.2.1 Methoden zur Strukturberechnung auf der Basis experimenteller Daten

Nach Auswertung der NMR-spektroskopischen Daten steht man vor dem Problem, aus der Vielzahl der daraus erhaltenen experimentellen Randbedingungen auf der Grundlage der bekannten kovalenten Struktur des Proteins die dreidimensionale Struktur des Moleküls zu bestimmen - ein hochkomplexes nichtlineares globales Optimierungsproblem. Dazu verwendet man heute in aller Regel Moleküldynamik-Simulationen, wohingegen Distanzgeometrie (Crippen und Havel 1978; Kuntz et al. 1979) trotz der eleganten Umgehung des Faltungsproblems wegen des Rechenaufwands, des schlechten Absuchens des Konformationsraums (Clore et al. 1986; Wagner et al. 1987) sowie der schlechten kovalenten Geometrie und den ungünstigen Van-der-Waals-Kontakten (Clore et al. 1987) der resultierenden Strukturen wenn überhaupt - fast ausschließlich nur als Teil eines Hybridverfahrens zum Einsatz kommt, bei dem eine anschließende Moleküldynamik-Simulation für eine Verbesserung der strukturellen Eigenschaften sorgt (Nilges et al. 1988a). Eine quantenmechanische Beschreibung des zeitlichen Ablaufs intramolekularer Bewegungsprozesse in ausreichender Genauigkeit im Rahmen von Moleküldynamik-Simulationen übersteigt jedoch die Rechenkapazität selbst der leistungsfähigsten heutigen Rechner bei weitem, wenn das untersuchte Molekül aus mehr als nur einigen wenigen Atomen besteht. Daher beschränkt man sich darauf, die relevanten Wechselwirkungen möglichst realistisch durch ein von den atomaren Koordinaten abhängendes Potential E<sub>chem</sub> zu modellieren und anschließend die Bewegungsgleichungen der klassischen Mechanik für dieses System numerisch zu lösen, etwa mit Hilfe des Verlet-Algorithmus (Verlet 1967), einem Bocksprung-Verfahren dritter Ordnung (Brünger et al. 1984; McCammon und Harvey 1987, Anhang 1.1; Jensen 1999, Abschnitt 16.2.1; Leach 2001, Abschnitt 7.3.1). Dabei ist darauf zu achten, dass der Zeitschritt der numerischen Integration so klein gewählt wird, dass auch die auf einer Zeitskala von etwa  $10^{-14} s$  (entsprechend einer Wellenzahl von etwa  $3000\frac{1}{cm}$ ) ablaufenden hochfrequenten Vibrationsmoden der kovalenten Bindungen noch erfasst werden, so dass man bei Proteinen typischerweise einen Zeitschritt in der Größenordnung von 1 fs verwendet. Bei Verwendung größerer Zeitschritte müssen die kovalenten Bindungslängen festgehalten werden, etwa durch den SHAKE-Algorithmus (Ryckaert et al. 1977) oder durch Rechnung im Torsionswinkelraum anstelle des kartesischen Vektorraums.

Neben der Untersuchung dynamischer Effekte ermöglicht eine Moleküldynamik-Simulation auch die Suche nach Strukturen, die einen Satz von Bedingungen zwar nicht unbedingt optimal erfüllen, aber doch zumindest sehr gut. Dazu werden zusätzlich zu den physikalischen Wechselwirkungen wie Bindungskräften oder Van-der-Waals-Kräften auch die experimentellen Randbedingungen in Form eines von den atomaren Koordinaten abhängenden Potentials  $E_{exp}$  ausgedrückt. Das Gesamtpotential  $E_{pot} = E_{chem} + w_{exp} E_{exp}$  dient dann als zu minimierende Zielfunktion, wobei der Faktor  $w_{exp}$  es erlaubt, in den verschiedenen Phasen der Simulation die Gewichtung der experimentellen Randbedingungen relativ zu den physikalischen Potentialtermen zu variieren. Die eigentliche Schwierigkeit bei der Minimierung der Zielfunktion besteht darin, bei der Vielzahl der lokalen Minima das globale Minimum zu finden, oder zumindest ein dem globalen Minimum sehr nahe kommendes lokales Minimum. Einfache Minimierungsverfahren wie etwa Steepest Descent oder Conjugate Gradient versagen hier, weil sie ausgehend von einer Startstruktur zielstrebig ein nahe gelegenes lokales Minimum aufsuchen (McCammon und Harvey 1987, Abschnitt 4.4). Um den Konformationsraum einigermaßen vollständig abzusuchen und somit auch stark von der Startstruktur abweichende Strukturen mit geringen Zielfunktionswerten finden zu können, beginnt man seine Moleküldynamik-Simulation mit einer hohen kinetischen Energie, so dass anfangs auch hohe Potentialberge noch überwunden werden können. Da eine hohe kinetischen Energie  $E_{kin}$  der N Atome mit den Massen  $m_i$  und den Geschwindigkeiten  $\vec{v}_i$  ( $i=1,2,\ldots,N$ ) gemäß dem Äquipartitionstheorem

$$E_{kin} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{N} m_i \, \vec{v}_i^2 = \frac{3}{2} N \, k_B \, T$$
(3.22)

einer hohen Temperatur T entspricht (Reif 1985, Abschnitt 7.5; Brenig 1992, Kapitel 24), bezeichnet man dieses Verfahren als Simulated Annealing (Kirkpatrick et al. 1983). Eine anschließende langsame Abkühlung führt dazu, dass gemäß der Boltzmann-Verteilung energetisch günstigere Konformationen mit immer höherer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, so dass von einem Satz von mehreren Simulationsrechnungen mit zufällig ausgewählten unterschiedlichen Anfangsbedingungen ein nicht unerheblicher Bruchteil in eine Struktur mündet, die eine brauchbare Lösung des Optimierungsproblems darstellt. Die Temperaturkontrolle erfolgt dabei durch Ankopplung des Systems an ein Wärmebad der Temperatur  $T_b$ , in unserem Fall mit Hilfe eines von der Abweichung der aktuellen Temperatur von der Temperatur des Wärmebades abhängenden Stokes'schen Reibungsterms in den Bewegungsgleichungen (Berendsen et al. 1984):

$$m_{i} \frac{d^{2} \vec{r_{i}}}{d t^{2}} + f_{i} m_{i} \left(1 - \frac{T_{b}}{T}\right) \frac{d \vec{r_{i}}}{d t} + \vec{\nabla_{i}} E_{pot} = 0 \quad \text{für } i = 1, 2, \dots, N$$
(3.23)

Dabei bezeichnet  $\vec{r_i}$  die Koordinaten und  $f_i$  den Reibungskoeffizienten des Atoms i. Ein alternatives Verfahren besteht in einer Neuzuweisung oder Reskalierung der Geschwindigkeiten, hat jedoch den Nachteil, dass es durch die dann auftretenden sprunghaften Unterbrechungen des Verlet-Algorithmus zu starken Oszillationen der Temperatur kommen kann (Brünger und Karplus 1991). Bei der Interpretation thermodynamischer Größen ist jedoch zu beachten, dass weder Systeme mit einer solchen Ankopplung an ein Wärmebad noch Systeme mit einer Neuzuweisung oder Reskalierung der Geschwindigkeiten kanonische Ensembles darstellen.

#### 3.2.2 Verwendete physikalische Potentialterme

Grundlage des für die physikalischen Wechselwirkungen verwendeten Potentials ist das empirische CHARMM-Kraftfeld (Brooks et al. 1983):

$$E_{chem} = E_{bonds} + E_{angles} + E_{impropers} + E_{noncov}$$
(3.24)

Die Parametrisierung der einzelnen Terme ist Gegenstand der folgenden Abschnitte.

#### 3.2.2.1 Bindungslängen

Die Kräfte entlang der kovalenten Bindungen werden durch ein harmonisches Potential modelliert:

$$E_{bonds} = \sum c_d (d - d_0)^2$$
(3.25)

Die Summe erstreckt sich dabei über alle kovalenten Bindungen;  $c_d$  ist eine empirisch bestimmte Kraftkonstante, d bezeichnet die tatsächliche Bindungslänge und  $d_0$  die ideale Bindungslänge.

### 3.2.2.2 Bindungswinkel

In gleicher Weise werden auch die Abweichung der Bindungswinkel  $\theta$  von den idealen Bindungswinkeln  $\theta_0$  durch ein harmonisches Potential der Form

$$E_{angles} = \sum c_{\theta} (\theta - \theta_0)^2$$
(3.26)

mit den Kraftkonstanten  $c_{\theta}$  beschrieben, wobei über alle Bindungswinkel zu summieren ist.

### 3.2.2.3 Diederwinkel, Planarität und Chiralität

Die Bindungslängen und Bindungswinkel reichen noch nicht aus, um die Bindungsgeometrie eines Moleküls festzulegen. Zu den wichtigsten Eigenschaften eines Proteins gehören etwa die Planarität der Peptidbindung, die trans-Konformation des Proteinrückgrats (mit Ausnahme mancher Prolin-Residuen), feste Chiralitäten sowie typische Torsionswinkel, und keine dieser Eigenschaften spiegelt sich in den Potentialtermen  $E_{bonds}$  und  $E_{angles}$  wider. Prinzipiell sind hier zwei Fälle denkbar:

a) Es existiert lediglich eine bevorzugte Konformation (z. B. bei fester Chiralität); in diesem Fall wird wiederum ein harmonisches Potential verwendet:

$$E_{impropers}^{(sing)} = \sum c_{\phi} (\phi - \phi_0)^2 \qquad (3.27)$$

 $\phi$  ist dabei der charakteristische Winkel, dessen bevorzugte Einstellung durch  $\phi_0$  gegeben ist,  $c_{\phi}$  die zugehörige Kraftkonstante.

b) Es existieren mehrere periodisch angeordnete gleichwertige bevorzugte Konformationen (z. B. bei der Rotation einer Methylgruppe, wo die C<sub>3</sub>-Symmetrie des Problems zu einer Periodizität von 120° führt); einer solchen Periodizitätseigenschaft trägt man mit einem kosinusförmigen Potential des Typs

$$E_{impropers}^{(per)} = \sum c_{\phi} \left( 1 + \cos\left(n\phi - \phi_{0}\right) \right)$$
(3.28)

Rechnung. Zu beachten ist hier allerdings, dass der Referenzwinkel  $\phi_0$  im Gegensatz zu den bisher behandelten Termen nicht etwa eine der energetisch günstigsten Konformationen darstellt, sondern dass das Potential an dieser Stelle gerade maximal wird. Der Parameter *n* gibt die Periodizität an (bei der Rotation einer Methylgruppe ist n=3, entsprechend einer Anzahl von drei Minima pro Periode).

Das Gesamtpotential erhält man aus der Summe dieser beiden Terme:

$$E_{impropers} = E_{impropers}^{(sing)} + E_{impropers}^{(per)}$$
(3.29)

### 3.2.2.4 Modellierung der Koordination der Calciumionen durch die EF-Hände

Ideale Bindungslängen  $d_0$ , Bindungswinkel  $\theta_0$  und Chiralitätswinkel  $\phi_0$  zwischen den beiden Calciumionen und ihren jeweils sieben von holo Bet v 4 bereitgestellten Sauerstoffliganden wurden wie bereits beschrieben (Nerkamp 2002, Abschnitt 3.8) aus einem Prototypen ausgelesen, der durch Mittelung der Koordinaten der entsprechenden Atome in den insgesamt vier EF-Händen jeweils der NH<sub>2</sub>-terminalen Domäne zweier hochaufgelöster Kristallstrukturen von holo Calmodulin aus *Paramecium tetraurelia* (Rao et al. 1993, PDB-Kennung 1CLM; Ban et al. 1994, PDB-Kennung 1OSA) erhalten worden war. Die Topologiedatei topo.ca2+, die Parameterdatei parameter.ca2+ sowie die zur Integration der Calciumkoordination in die mit Hilfe der Protokolldatei generate\_structure.inp (Anhang 10.6.5) erzeugte PSF-Datei von Bet v 4 notwendigen Protokolldateien generate\_ca2+.inp und make\_cluster.inp sind in Anhang 10.6.2, 10.6.4, 10.6.6 bzw. 10.6.7 abgedruckt.

### 3.2.2.5 Nichtkovalente Wechselwirkungen

Die bisher vorgestellten Terme ergeben sich alle aus der kovalenten Struktur des Moleküls, hängen also direkt mit der Bindungsgeometrie zusammen. Daneben existieren jedoch auch nichtkovalente Wechselwirkungen, insbesondere die Van-der-Waals-Wechselwirkung sowie die elektrostatische Wechselwirkung zwischen geladenen Seitenketten:

$$E_{noncov} = E_{VdW} + E_{el} \tag{3.30}$$

Im CHARMM-Kraftfeld wird für die Van-der-Waals-Wechselwirkung ein Lennard-Jones-Potential verwendet:

$$E_{VdW} = \frac{1}{2} \sum_{i, j=1}^{N} \left( \frac{c_{rep}}{r_{ij}^{12}} - \frac{c_{att}}{r_{ij}^{6}} \right)$$
(3.31)

Dieses Potential besteht zum einen aus einem abstoßenden Term mit der Kraftkonstante  $c_{rep}$ , der proportional zur inversen zwölften Potenz des Abstands der beiden wechselwirkenden Atome  $r_{ij}$  ist und verhindert, dass sich die Elektronenwolken zu stark durchdringen, und zum anderen aus einem anziehenden Term mit der Kraftkonstante  $c_{att}$ , der aus einer induzierten elektrischen Dipol-Dipol-Wechselwirkung resultiert und daher proportional zur inversen sechsten Potenz des Atomabstands ist (Schiff 1968, Abschnitt 32; Landau und Lifschitz 1986, § 86). Der Gleichgewichtsabstand, bei dem dieses Potential seinen minimalen Wert annimmt, ist gegeben durch die Summe der beiden Van-der-Waals-Radien  $r_{VdW,i}$  und  $r_{VdW,j}$ :

$$r_{min} \coloneqq \sqrt[6]{\frac{2 c_{rep}}{c_{att}}} = r_{VdW,i} + r_{VdW,j}$$
(3.32)

Die elektrostatische Wechselwirkung aller Paare von zwei Atomen mit den Ladungen  $q_i$  und  $q_j$  in einem homogenen und isotropen Medium der relativen Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_r$  ist gegeben durch

$$E_{el} = \frac{1}{8\pi \epsilon_r \epsilon_0} \sum_{i, j=1}^{N} \frac{q_i q_j}{r_{ij}^2}$$
(3.33)

(Jackson 1975, Abschnitt 1.11). Ein besonderes Problem bei Proteinen stellt hierbei die relative Dielektrizitätskonstante dar (siehe Glasel und Deutscher 1995, Abschnitt 1.III.C): Die hohe relative Dielektrizitätskonstante eines stark polaren Lösungsmittels wie Wasser führt nicht nur dazu, dass die elektrostatische Wechselwirkung in hohem Maße davon abhängig ist, wie stark lösungsmittelexponiert die beiden wechselwirkenden Ladungen sind; wegen des geringen Abstands der Ladungen, der sich in der gleichen Größenordnung bewegt wie die Größe eines Wassermoleküls, kann auch nicht mehr unbedingt von einem homogenen und isotropen Medium ausgegangen werden, so dass (3.33) seine Gültigkeit verliert.

Wirklich unentbehrlich für die lokale Geometrie einer Proteinstruktur ist von diesen nichtkovalenten Potentialtermen lediglich der abstoßende Teil der Van-der-Waals-Wechselwirkung, der ein Durchdringen der Atome verhindert. Um die auftretenden Schwierigkeiten bei der Parametrisierung zu umgehen, wird daher bei Moleküldynamik-Simulationen zur Bestimmung von Proteinstrukturen mit Hilfe experimenteller Randbedingungen meist auf die anderen Terme verzichtet; die Existenz von Salzbrücken ergibt sich dabei idealerweise auch ohne Berücksichtigung des die elektrostatische Wechselwirkung beschreibenden Terms aus den experimentellen Daten. Diese Reduzierung der Potentialfunktion spart gleichzeitig Rechenzeit (Nilges et al. 1988c), und außerdem vermeidet man das Problem, dass die vergleichsweise starken elektrostatischen Kräfte ein Aufbrechen im Laufe der Simulation auftretender in der Realität nicht vorhandener Salzbrücken erschweren, mit entsprechend negativen Folgen für die Konvergenz. Abweichend vom CHARMM-Kraftfeld wurde in dieser Arbeit für den abstoßenden Teil ein Potential vierter Ordnung verwendet:

$$E_{noncov} = E_{VdW} = \frac{1}{2} \sum_{i, j=1}^{N} \left\{ c_{rep} \left( (s r_{min})^2 - r_{ij}^2 \right)^2 \text{ falls } r_{ij} < s r_{min} \\ 0 \text{ falls } r_{ij} \ge s r_{min} \right\}$$
(3.34)

Ein solches Potential ist nicht so steil wie der abstoßende Anteil des Lennard-Jones-Potentials, was zu einem verbesserten Konvergenzverhalten führt (Brünger 1992b, Abschnitt 4.3.1). Über den Skalierungsfaktor *s* ist es möglich, für die verschiedenen Phasen der Simulation unterschiedlich große Van-der-Waals-Radien vorzugeben.

# 3.2.3 Verwendete experimentelle Potentialterme

Die experimentellen Randbedingungen lagen entweder in Form von Abstandsbeschränkungen (Abschnitte 3.1.5.1 und 3.1.5.3), in Form von Beschränkungen der Diederwinkel (Abschnitt 3.1.5.2), in Form von dipolaren Kopplungskonstanten (Abschnitt 3.1.5.4) oder in Form von Chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>C $\alpha$ - und <sup>13</sup>C $\beta$ -Kerne vor; des Weiteren wurde bei den

meisten Strukturrechnungen ein Datenbank-Term und bei den Strukturrechnungen von Bet v 4 ein Gyrationsradius-Term verwendet. Daraus ergaben sich sechs Potentialterme:

$$E_{exp} = E_{NOE} + E_{cdih} + E_{rdc} + E_{carbon} + E_{db} + E_{rgyr}$$
(3.35)

### 3.2.3.1 Abstandsbeschränkungen

Das die experimentellen Randbedingungen repräsentierende Potential stellt keine Energie im physikalischen Sinne dar. Daher existieren auch keine empirisch bestimmbaren Parameter, die dieses Potential beschreiben; die einzige Bedingung an ein solches Potential ist die Zweckmäßigkeit hinsichtlich der Strukturberechnung. Bei den ersten Proteinstrukturbestimmungen auf der Basis NMR-spektroskopischer Daten mit Hilfe von Simulated-Annealing-Verfahren kam meist ein Kastenpotential mit quadratischen Wänden zum Einsatz (Clore et al. 1986). Es stellte sich jedoch bald heraus, dass die Konvergenz bei Verwendung eines solchen Potentials verbessert werden kann, wenn man für große Verletzungen einer Abstandsbeschränkung eine lineare Asymptote einführt (Nilges et al. 1988c). Die sich aus den NOE-Kreuzresonanzen und den identifizierten Wasserstoffbrücken ergebenden Abstandsbeschränkungen wurden daher in folgender Form für die Berechnung der Struktur von Pru av 1 E45W und Bet v 4 genutzt:

$$E_{NOE} = \sum \left\{ \begin{array}{ccc} c_{NOE} (r - r_{l})^{2} & \text{falls } r < r_{l} \\ 0 & \text{falls } r_{l} \le r \le r_{u} \\ c_{NOE} (r - r_{u})^{2} & \text{falls } r_{u} < r < r_{s} \\ c_{NOE} \left( a + \frac{b}{(r - r_{u})} + c(r - r_{u}) \right) & \text{falls } r \ge r_{s} \end{array} \right\}$$
(3.36)

 $r_l$  und  $r_u$  stellen dabei die experimentell bestimmte Unter- sowie Obergrenze für den Abstand r dar,  $c_{NOE}$  die Kraftkonstante. Für den Abstand r zu nicht eindeutig identifizierbaren

Atomen (z. B. den drei Protonen einer Methylgruppe) wird die mit  $\frac{1}{r_k^6}$  gewichtete Summe der Abstände zu den einzelnen Atomen  $r_k$  verwendet, der Einfachheit halber auch bei Aromaten-Seitenketten und Methylgruppen, wo schnelle Rotationsbewegungen in der Regel eine andere Abstandsabhängigkeit der Gesamtintensität der NOE-Kreuzresonanzen bewirken (Koning et al. 1990). Der Parameter c legt die Steigung der linearen Asymptote fest; a und b werden so gewählt, dass das Potential an der Stelle  $r_s$ , wo der Übergang von der quadratischen Abhängigkeit zur linearen Asymptote erfolgt, stetig und differenzierbar ist, d. h.:

$$a = -2c(r_s - r_u) + 3(r_s - r_u)^2$$
(3.37)

$$b = + c (r_s - r_u)^2 - 2 (r_s - r_u)^3$$
(3.38)

Die in dieser Arbeit tatsächlich verwendeten Parameter  $r_s = r_u + 1,0 \text{ Å}$  und c = 2,0 Å stellen dabei gerade den Sonderfall dar, bei dem wegen  $a = -1.0 \text{ Å}^2$  und b = 0 das Potential bei  $r_s$ unmittelbar von der quadratischen in die lineare Abhängigkeit übergeht, da der Übergangsterm dann ganz verschwindet. Dieser Fall ist in Abb. 3.2 dargestellt, wobei für die Strukturberechnung von Pru av 1E45W und Bet v 4 die Untergrenze allerdings immer auf  $r_1 = 0,0 \text{ Å}$ gesetzt wurde, um die Konvergenz zu erhöhen (Varani et al. 1996).



Abb. 3.2 Form des für eine aus experimentellen Daten abgeleitete Abstandsbeschränkung verwendeten Potentialterms  $E_{NOE}$  in Abhängigkeit vom tatsächlichen Abstand r gemäß (3.36). Die Untergrenze für den Abstand beträgt  $r_l \approx 1,8 \text{ Å}$ , die Obergrenze  $r_u \approx 5,0 \text{ Å}$ . Als Wert für die Kraftkonstante wurde  $c_{NOE} \approx 1,0 \frac{kcal}{mol \text{ Å}^2}$  gewählt. Der Übergang von der quadratischen zur linearen Abhängigkeit mit dem Steigungsparameter  $c \approx 2,0 \text{ Å}$  erfolgt bei  $r_s \approx r_u + 1,0 \text{ Å} = 6,0 \text{ Å}$ .

### 3.2.3.2 Beschränkungen der Diederwinkel

Auch für die aus den gemessenen skalaren Kopplungskonstanten erhaltenen Beschränkungen der Torsionswinkel  $\Phi$  der Form  $\Phi_1 \le \Phi \le \Phi_u$  kam ein Kastenpotential mit quadratischen Wänden zum Einsatz, wobei jedoch auf eine lineare Asymptote verzichtet wurde:

$$E_{cdih} = \sum \begin{cases} c_{cdih} (\Phi - \Phi_{l})^{2} & \text{falls } \Phi < \Phi_{l} \\ 0 & \text{falls } \Phi_{l} \le \Phi \le \Phi_{u} \\ c_{cdih} (\Phi - \Phi_{u})^{2} & \text{falls } \Phi > \Phi_{u} \end{cases}$$
(3.39)

Dabei steht  $c_{cdih}$  für die Kraftkonstante.

# 3.2.3.3 Dipolare Kopplungskonstanten

Die dipolaren Kopplungskonstanten (Abschnitt 3.1.5.4) wurden mit Hilfe eines harmonischen Potentials der Form

$$E_{rdc} = \sum c_{rdc} \left( D - D_a \left( \left( 3\cos^2 \theta - 1 \right) + \frac{3}{2} R \sin^2 \theta \cos 2 \phi \right) \right)^2$$
(3.40)

mit den Kraftkonstanten  $c_{rdc}$  berücksichtigt (Tjandra et al. 1997), wobei über alle gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten zu summieren ist. Dabei bezeichnen  $\theta$  bzw.  $\phi$  den Polarwinkel bzw. den Azimutwinkel des jeweiligen N-HN-Bindungsvektors im Hauptachsensystem des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$ , dessen Anisotropie  $D_a$  und Rhombizität R aus den Extremwerten der gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten geschätzt wurde (Abschnitt 3.1.5.4.2). Die Orientierung dieses Hauptachsensystems wurde in Form von vier zusätzlichen, ein rechtshändiges paarweise orthogonales Dreibein der Kantenlänge 3,00 Å mit festgehaltenem Ursprung aufspannenden und nicht mit dem Protein wechselwirkenden Pseudoatomen der Masse 30 Da während der Strukturberechnung mit angepasst (Clore et al. 1998a). Wegen der Notwendigkeit eines näherungsweise gleichen Ordnungsparameters der internen Bewegung S für die Verwendung des Vorzugorientierungstensors  $\overline{D}$  (Abschnitt 3.1.5.4) wurden bei der Strukturberechnung von Bet v 4 die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  von Asp 2, Asp 3, His 4, Glu 6, Ser 40, Ile 41 und Phe 84 nicht berücksichtigt, da für die Amidruppen in diesen Bereichen aus einem Reduced Spectral Density Mapping (RSDM; Bracken et al. 1999) generalisierte Ordnungsparameter von  $S_{RSDM} < 0.90$  bestimmt wurden (Eisenmann 2001, Abschnitt 4.4; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung). Zu beachten ist jedoch, dass  $S_{RSDM} \ge 0.90$  lediglich ein notwendiges, aber kein hinreichendes Kriterium darstellt, da die aus dem RSDM gewonnenen generalisierten Ordnungsparameter  $S_{RSDM}$  vor allem für auf der Pico- bis Nanosekundenzeitskala stattfindende interne Bewegungen empfindlich sind, die Ordnungsparameter S hingegen prinzipiell auch für auf der Mikro- bis Millisekundenzeitskala stattfindende interne Bewegungen (Tolman et al. 1997; Meiler et al. 2001), da die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  der Größenordnung 10 Hz wie bereits in Abschnitt 3.1.5.4.1 beschrieben auf der Millisekundenzeitskala der chemischen Verschiebung gemessen werden.

# 3.2.3.4 Chemische Verschiebungen der <sup>13</sup>Cα- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne

Die gemessenen chemischen Verschiebungen der  ${}^{13}C\alpha$ - und  ${}^{13}C\beta$ -Kerne wurden mit Hilfe eines harmonischen Potentials der Form

$$E_{carbon} = \sum c_{carbon} \left( \left( {}^{13}C \alpha - {}^{13}C \alpha \left( \Phi ; \Psi \right) \right)^2 + \left( {}^{13}C \beta - {}^{13}C \beta \left( \Phi ; \Psi \right) \right)^2 \right)$$
(3.41)

mit der Kraftkonstante  $c_{carbon}$  berücksichtigt (Kuszewski et al. 1995), wobei über alle Reste mit Ausnahme des NH<sub>2</sub>- und des COOH-terminalen Rests zu summieren ist, von denen sowohl die chemische Verschiebung des <sup>13</sup>C $\alpha$ -Kerns <sup>13</sup>*C*  $\alpha$  als auch die des <sup>13</sup>C $\beta$ -Kerns <sup>13</sup>*C*  $\beta$ gemessen werden konnte. Die zu erwartenden chemischen Verschiebungen <sup>13</sup>*C*  $\alpha$  ( $\Phi$ ;  $\Psi$ ) und <sup>13</sup>*C*  $\beta$  ( $\Phi$ ;  $\Psi$ ) bei einer gegebenen Kombination der Torsionswinkel  $\Phi$  und  $\Psi$  des Proteinrückgrats wurden der Datenbank von Spera und Bax (1991) entnommen, wobei die innerhalb der Messfehler der chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>C-Kerne liegende systematische Differenz von etwa 0,1 *ppm* (Wishart und Sykes 1994) durch die damals verwendete Referenzierung relativ zu internem 3-(Trimethylsilyl)-propionat (TSP) anstelle von DSS (Abschnitt 3.1.2) ignoriert wurde. Die zu erwartenden chemischen Verschiebungen <sup>13</sup>*C*  $\alpha$  ( $\Phi$ ;  $\Psi$ ) und <sup>13</sup>*C*  $\beta$  ( $\Phi$ ;  $\Psi$ ) von Resten mit einem Prolin als Nachfolger wurden entsprechend korrigiert (Wishart et al. 1995).

# 3.2.3.5 Datenbank-Term

Das Datenbank-Potential  $E_{db}$  nimmt in zweierlei Hinsicht eine Sonderstellung unter den verwendeten Potentialtermen ein: Zum einen handelt es sich zwar insoweit um einen experimentellen Potentialterm, als er aus einer Vielzahl experimentell bestimmter hochaufgelöster Kristallstrukturen abgeleitet wird; allerdings fließen keine direkt am untersuchten System gemessenen experimentellen Daten ein. Zum anderen liegt er in rein numerischer Form vor, besitzt also im Gegensatz zu den bisher betrachteten Termen keine analytische Parametrisierung. Die Motivation für die Einführung eines solchen Potentials ergibt sich aus der Tatsache, dass bestimmte lokale Konformationen, etwa die für die regulären Sekundärstrukturelemente typischen Kombinationen der Torsionswinkel des Proteinrückgrats (siehe Abb. 4.22 und Abb. 4.35), zwar mit besonders hoher Wahrscheinlichkeit auftreten, dies jedoch aufgrund der schlechten Qualität der Modellierung insbesondere der nichtkovalenten Wechselwirkungen in  $E_{chem}$  kaum zum Ausdruck kommt (Kuszewski et al. 1996; Clore und Gronenborn 1998). Neben einer Verbesserung der Stereochemie der fertigen Strukturen hat der Einsatz eines solchen Terms bei der Strukturbestimmung von Proteinen auf der Grundlage NMR-spektroskopischer Daten noch einen weiteren Vorteil: Eine der größten in der Praxis auftretenden Schwierigkeiten besteht darin, möglichst frühzeitig brauchbare Teststrukturen zu erhalten, anhand derer in den experimentellen Daten enthaltene Mehrdeutigkeiten entschieden werden können (siehe Abschnitt 3.1.5.1). Dies wird durch die Verwendung eines Datenbank-Potentials erleichtert, weil es zu einer Stabilisierung von durch die experimentellen Randbedingungen noch schlecht definierten Bereichen beiträgt, insbesondere bei Vorliegen regulärer Sekundärstrukturelemente.

Ein solcher Datenbank-Potentialterm besteht aus mehreren Hyperflächen, von denen jede die Verteilung eines bestimmten Satzes von Torsionswinkeln in der zu Grunde liegenden hinreichend großen Datenbank hochaufgelöster Kristallstrukturen repräsentiert, z. B. des  $X_4$ -Torsionswinkels von Arginin und Lysin (1D-Hyperfläche), der  $\Phi/\Psi$ -Torsionswinkelkombinationen aller Reste mit Ausnahme von Glycin (2D-Hyperfläche) oder der  $\alpha/\beta/\zeta(i-1)$ -Torsionswinkelkombinationen aller Nucleotide. In dieser Arbeit wurde ein Datenbank-Potential aus einer 3D-Hyperfläche für die  $\Phi/\Psi/X_1$ -Torsionswinkelkombinationen aller Reste mit Ausnahme von Glycin und Alanin zusammen mit einer Reihe von auch weitere Torsionswinkel berücksichtigenden Hyperflächen niedrigerer Dimension eingesetzt (Kuszewski et al. 1996; Kuszewski et al. 1997; Clore und Gronenborn 1998; Kuszewski und Clore 2000). Um diese Hyperflächen zu erhalten, teilt man zunächst den zu Grunde liegenden Konformationsraum in Hyperkubus ein, z. B. in Hyperkubus von  $10^\circ \times 10^\circ \times 10^\circ$  im Falle einer 3D-Hyperfläche, bestimmt die relativen Häufigkeiten p(i) für das Auftreten der entsprechenden Konformationen in der Datenbank und rechnet diese relativen Häufigkeiten mit Hilfe der Boltzmann-Verteilung

$$E_{db}(i) = -k_{db} \ln p(i) \tag{3.42}$$

in die zugehörige Energie für eine zum Hyperkubus *i* gehörende Konformation um, wobei  $k_{db}$  einen Skalierungsfaktor darstellt (Kuszewski et al. 1996). Für die partielle Ableitung der Hyperfläche  $E_{db}$  nach einem bestimmten Torsionswinkel  $\phi$  für eine Konformation im Hyperkubus *i* wird der Näherungswert

$$\frac{\partial E_{db}(i)}{\partial \phi} = \frac{E_{db}(i+1) - E_{db}(i-1)}{2\Delta\phi}$$
(3.43)

verwendet, wobei i+1 und i-1 die zu i benachbarten Hyperkubus in  $\phi$ -Richtung bezeichnen sowie  $\Delta \phi$  die Breite der Hyperkubus in  $\phi$ -Richtung. Diese partiellen Ableitungen bilden die Gradienten der Hyperflächen im Torsionswinkelraum, die anschließend in den kartesischen Raum transformiert werden, um die im Laufe der Moleküldynamik-Simulation auf

die einzelnen Atome wirkenden Kräfte zu berechnen. Kuszewski und Clore (2000) bemerkten vor kurzem, dass die offensichtlichen Unstetigkeiten der Näherung (3.43), die durch lineare Interpolation in einer verbesserten Version des Datenbank-Potentials (Kuszewski et al. 1997) lediglich abgemildert werden, durch diese Transformation erheblich verstärkt werden können. Da eine Moleküldynamik-Simulation die klassischen Bewegungsgleichungen löst, die implizit alle auftretenden Kräfte als stetig voraussetzt, können diese Unstetigkeiten sowohl die Konvergenz hin zu energetisch bevorzugten lokalen Konformationen als auch das Absuchen des Konformationsraumes negativ beeinflussen, insbesondere wenn die Zahl der experimentellen Randbedingungen sehr klein ist. Aus diesem Grund haben Kuszewski und Clore (2000) jede Hyperfläche durch eine Summe von  $18 \le N \le 60$  Gauß-Funktionen angenähert. Dies lieferte zwar eine analytische Darstellung des Datenbank-Potentials mit stetigen partiellen Ableitungen, vergrößerte jedoch leider die benötigten CPU-Zeit um ein Mehrfaches, da sich die Zahl der auszuwertenden Hyperflächen um den Faktor N vervielfachte (Abschnitt 4.3). Gauß-Funktionen fallen allerdings sehr schnell ab, ihr Wert im Abstand von 5,0 bzw. 7,5 bzw. 10,0 Standardabweichungen vom Mittelpunkt beträgt z. B. nur noch etwa 3,7 · 10<sup>-6</sup> bzw.  $6.1 \cdot 10^{-13}$  bzw.  $1.9 \cdot 10^{-22}$ . Daher wurde die NIH-Version (Kuszewski und Clore 2000) von X-PLOR 3.840 (Brünger 1992b) so modifiziert, dass standardmäßig nur noch Gauß-Funktionen betrachtet werden, deren Mittelpunkte weniger als 10,0 Standardabweichungen von der tatsächlichen Konformation entfernt sind, aber der Benutzer kann für die einzelnen Klassen von Hyperflächen auch seinen eigenen Satz an Grenzwerten vorgeben und diese Grenzwerte im Laufe der Strukturberechnung sogar jederzeit ändern (Neudecker et al. 2001b). Neuere NIH-Versionen (Schwieters et al. 2003) von X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) enthalten mittlerweile eine ähnliche Modifikation. Bei der Strukturberechnung von Pru av 1 E45W und Bet v 4 sowie bei der Energieminimierung des Strukturmodells von Gly m 4 wurde ein Grenzwert von 10,0 Standardabweichungen verwendet.

### 3.2.3.6 Gyrationsradius-Term

Die Reduzierung der Potentialfunktion der nichtkovalenten Wechselwirkungen  $E_{noncov}$  auf den abstoßenden Teil (Abschnitt 3.2.2.6) kann neben der Stereochemie ohne Datenbank-Term (Abschnitt 3.2.3.5) auch die Kompaktheit der resultierenden Strukturen beeinträchtigen. Dies lässt sich durch einen Potentialterm reduzieren, der den Gyrationsradius

$$R_{gyr} \coloneqq \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{j=1}^{N} \left( \overrightarrow{r_j} - \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} \overrightarrow{r_i} \right)^2}$$
(3.44)

eines globulären Bereichs bestehend aus *N* Atomen mit den Ortsvektoren  $\vec{r_i}$  mit Hilfe eines harmonischen Potentials der Form

$$E_{rgyr} = \sum c_{rgyr} \left( R_{gyr} - R_0 \right)^2$$
(3.41)

mit der Kraftkonstante  $c_{rgyr}$  zum gemessenen oder geschätzten tatsächlichen Gyrationsradius des jeweiligen Bereichs  $R_0$  hinzieht (Kuszewski et al. 1999; Huang und Powers 2001), wobei über alle solchen globulären Bereiche zu summieren ist. Für die Strukturberechnung von Bet v 4 wurde der Gyrationsradius der Reste 5 bis 84, d. h. aller Reste mit Ausnahme des flexiblen NH<sub>2</sub>-Terminus (Abschnitt 4.7.3.1), auf  $R_0 = 11,7$  Å geschätzt, da kleinere Gyrationsradien in Testrechnungen nicht erfüllt werden konnten.

### 3.2.4 Durchführung der Strukturberechnung

Die Berechnung der Struktur von Pru av 1 E45W und Bet v 4 wurde mit der NIH-Version 1.2.1 (Schwieters et al. 2003) des Programmpakets X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) auf einem mit vier jeweils mit 400 *MHz* getakteten Ultra Sparc II Prozessoren bestückten Sun Ultra Enterprise 450 Server (Sun Microsystems Inc., Palo Alto, CA, USA) durchgeführt. Die Berechnung von 90 Strukturen mit dem unten beschriebenen Protokoll benötigte auf diesem Rechner etwa 119 Stunden.

Als Ausgangspunkt für das Simulated Annealing diente bei Pru av 1 E45W ein in Sybyl 6.5 (Tripos Inc., St. Louis, MO, USA) erstelltes Strukturmodell auf Basis der Struktur von Pru av 1 wt mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a), bei Bet v 4 eine durch kurzes Simulated Annealing gemäß der Protokolldatei dgsa.inp (Brünger 1992b, Abschnitt 20.3.3) grob regularisierte Startstruktur mit zufällig verdrehten Torsionswinkeln  $\Phi$  und  $\Psi$  des Proteinrückgrats. Um daraus einen Satz von 60 bzw. 90 möglichst gleichmäßig über den Konformationsraum verteilten Startstruktur zu erhalten, wurden die Torsionswinkel  $\Phi$  und  $\Psi$  des Proteinrückgrats der Startstruktur zufällig verdreht. Diese Startstrukturen wurden anschließend mit Hilfe einer aus 50 Schritten bestehenden Energieminimierung grob regularisiert, da eine allzu große potentielle Energie der Startstruktur sich rasch in kinetische Energie umwandeln würde, so dass nach (3.22) die Temperatur zu Beginn der Simulation in die Höhe schießen würde. Für diese Energieminimierung kam ein Powell-Algorithmus zum Einsatz (Powell 1977), der auf der Conjugate-Gradient-Methode beruht (siehe McCammon und Harvey 1987, Abschnitt 4.4).

Die Moleküldynamik-Simulation selber basiert auf dem dreiphasigen Simulated-Annealing-Protokoll (Kharrat et al. 1995; Nilges und O'Donoghue 1998), das bereits bei der Strukturbestimmung von Pru av 1 wt erfolgreich eingesetzt worden war (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b). Da zahlreiche kleinere Modifikationen vorgenommen wurden, ist das bei Bet v 4 verwendete Protokoll sa\_betv4.inp in Anhang 10.6.8 abgedruckt, das bei Pru av 1 E45W verwendete Protokoll sa pruale45w.inp ist bis auf die durch die Koordination der beiden Calciumionen bedingten Besonderheiten bei Bet v 4 sowie die nicht verwendeten Potentialterme für die dipolaren Kopplungskonstanten  $E_{rdc}$ , die chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>C $\alpha$ - und <sup>13</sup>C $\beta$ -Kerne  $E_{carbon}$  und den Gyrationsradius  $E_{rgyr}$ identisch. Die erste Phase bestand aus einer 160 ps langen Hochtemperaturphase bei T = 2000 K zum Absuchen des Konformationsraums, wobei den Atomen im Rahmen der Maxwell-Boltzmann-Verteilung zufällige Anfangsgeschwindigkeiten  $\vec{v}_i(0)$  zugewiesen wurden. Da es in dieser Phase nicht so sehr auf gute Struktureigenschaften ankommt, wurde ein mit 2 fs vergleichsweise langer Zeitschritt gewählt (siehe Abschnitt 3.2.1), um Rechenzeit zu sparen. Außerdem wurde für die Berechnung des abstoßenden Van-der-Waals-Potentials (3.34) bei jeder Aminosäure nur das Ca-Atom sowie ein weiteres C-Atom der Seitenkette berücksichtigt, und zwar jeweils mit  $sr_{min} = 2,25 \text{ Å}$ . Die Kraftkonstante für die Abstandsbeschränkungen wurde dabei in 4 Schritten von  $c_{NOE} = 10,0 \frac{kcal}{mol \, \AA^2}$  auf  $c_{NOE} = 50,0 \frac{kcal}{mol \, \AA^2}$  erhöht. Für die Kraftkonstanten der chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>Cα- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne bzw. des Gyrationsradius wurden Werte von  $c_{carbon} = 0.5 \frac{kcal}{mol \ ppm^2}$  bzw.  $c_{rgyr} = 50.0 \frac{kcal}{mol \ Å^2}$  verwendet. Anschließend folgten 120 ps einer langsamen Abkühlung auf T = 1000 K in 20 Schritten von jeweils 50 K. Von dieser Phase an wurden alle Atome bei der Berechnung des Van-der-Waals-Potentials berücksichtigt. Um die Auflösung von Verknotungen der Peptidkette zu ermöglichen, wurde der Van-der-Waals-Term relativ zu den kovalenten und experimentellen Termen mit  $c_{rep} = 0.003 \frac{kcal}{mol \tilde{A}^4}$  anfangs nur sehr schwach gewichtet und sein Gewichtungsfaktor dann schrittweise bis auf seinen endgültigen Wert von  $c_{rep} = 4.0 \frac{kcal}{mol \dot{A}^{+}}$  erhöht. Auch die Kraftkonstante für die dipolaren Kopplungskonstanten wurde von  $c_{rdc} = 0.01 \frac{kcal}{mol Hz^2}$  schrittweise auf  $c_{rdc} = 1.0 \frac{kcal}{mol Hz^2}$  angezogen. In der 60 ps langen dritten Phase erfolgte schließlich eine Abkühlung auf T = 100 K, wiederum in Schritten von jeweils 50 K. Dabei wurden die Parameter der Potentialfunktion E<sub>pot</sub> nicht mehr weiter verändert. Der Zeitschritt in den beiden Abkühlungsphasen betrug 1 fs. Zur endgültigen Optimierung wurden die so erhaltenen 60 bzw. 90 Strukturen noch einer Powell-Energieminimierung unterzogen (siehe oben), und zwar zunächst 200 Schritten mit allen verwendeten Potentialtermen und anschließend 1000 Schritten ohne den Potentialterm für die chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>Cα- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne  $E_{carbon}$ , den Datenbank-Potentialterm  $E_{db}$  und den Gyrationsradius-Potentialterm  $E_{rgyr}$ . Es sei noch angemerkt, dass bei einer Verlängerung der Simulationsdauer im Rahmen von Testrechnungen bei Pru av 1 wt keine signifikante Verbesserung der Konvergenz beobachtet wurde (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a). Die stereospezifische Zuordnung der Resonanzen prochiraler Gruppen erfolgte bei allen Strukturberechnungen indirekt, indem während der Moleküldynamik-Simulation aus den möglichen Zuordnungen diejenige ausgewählt wurde, die die experimentellen Randbedingungen am besten erfüllte, d. h. diejenige mit dem kleinsten Wert des Potentialterms  $E_{NOE}$  (Holak et al. 1989).

### 3.2.5 Modellierung der Struktur von Gly m 4

Mit SWISS-MODEL (Guex und Peitsch 1997) wurde auf Basis der NMR-Struktur von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09), einer NMR-Struktur von Bet v 1 (Schweimer et al. 1999, PDB-Kennung 1B6F) und zwei Kristallstrukturen von Bet v 1 (Mirza et al. 2000, PDB-Kennung 1FSK; Gajhede et al. 1996, PDB-Kennung 1BV1) ein Homologiemodell von Gly m 4 erstellt, das in Sybyl 6.5 (Tripos Inc., St. Louis, MO, USA) nach Ansetzen von Wasserstoffatomen 100 Schritten Energieminimierung mit dem Tripos-Kraftfeld unterzogen wurde. Mit der in Anhang 10.6.9 abgedruckten Protokolldatei min\_sam22\_sani\_j.inp wurde dieses Homologiemodell anschließend mit der NIH-Version 1.2.1 (Schwieters et al. 2003) von X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) weiteren 200 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) unter Berücksichtigung der bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen in Form der Potentialterme für die Diederwinkelbeschränkungen aus skalaren Kopplungskonstanten  $E_{cdih}$ , für die dipolaren Kopplungskonstanten  $E_{rdc}$ , für die chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>C $\alpha$ - und <sup>13</sup>C $\beta$ -Kerne  $E_{carbon}$  sowie des Datenbank-Potentialterms  $E_{db}$  unterzogen, und schließlich 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) unter Berücksichtigung der Potentialterme für die Diederwinkelbeschränkungen aus skalaren Kopplungskonstanten E<sub>cdih</sub> sowie für die dipolaren Kopplungskonstanten  $E_{rdc}$ , aber nicht des Potentialterms für die chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>C $\alpha$ - und <sup>13</sup>C $\beta$ -Kerne  $E_{carbon}$  sowie des Datenbank-Potentialterms  $E_{db}$ .

# 3.2.6 Modellierung der Komplexstruktur von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Lipidliganden

Die hydrophoben Hohlräume im Innern der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 (Gajhede et al. 1996, PDB-Kennung 1BV1) und der NMR-Struktur von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) wurden mit Hilfe des Programms SURFNET 1.5 (Laskowski 1995) vermessen, wobei eine Gitterabstand von 1,0 Å sowie ein minimaler bzw. maximaler Radius von 1,4 Å bzw. 3,5 Å für die als Sonden zum Ausfüllen des Hohlraums dienenden Kugeln verwendet wurde. Zur Analyse der Kontakte zwischen Bet v 1 bzw. Pru av 1 wt und den jeweiligen Lipidliganden in den modellierten Komplexstrukturen diente das Programm LIGPLOT 4.0 (Wallace et al. 1995).

Topologie- und Parameterdateien für Cholesterin wurden auf Basis des Cholesterinlinoleat-Liganden einer Kristallstruktur (Ghosh et al. 1995, PDB-Kennung 1CLE) nach Löschung der Linoleat-Atome und Ansetzen von Wasserstoffatomen in InsightII 98.0 (Molecular Simulations Inc., San Diego, CA, USA) mit Hilfe des HIC-Up Servers (Kleywegt und Jones 1998) erzeugt und anschließend manuell modifiziert, um daraus die in Anhang 10.6.10 bzw. 10.6.11 abgedruckten Topologie- und Parameter-Dateien cast\_top.txt bzw. cast\_par.txt für Castasteron zu erhalten. Da die Öffnung zwischen der langen COOHterminalen  $\alpha$ -Helix  $\alpha_3$  und der Schleife von Glu 60 bis Gln 63 bei der NMR-Struktur von Pru av 1 wt mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) größer ist als die entsprechende Öffnung bei der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 (Gajhede et al. 1996), wurden zunächst die stärker eingeschränkten Komplexstrukturen von Bet v 1.2801 modelliert und die Ergebnisse anschließend auf Pru av 1 wt übertragen. Dazu wurden durch Simulated Annealing gefolgt von 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) in X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) gemäß einer Protokolldatei ähnlich der in Abschnitt 10.6.8 abgedruckten Protokolldatei sa\_betv4.inp jeweils 60 Komplexstrukturen von Bet v 1.2801 mit einem bzw. mit zwei Castasteron-Molekülen modelliert, wobei die Atome der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 festgehalten wurden und die C8-Atome jedes Castasteron-Moleküls durch den in Anhang 10.5.4 abgedruckten Satz von jeweils 33 Abstandsbeschränkungen zwischen dem C8-Atom jedes Castasteron-Moleküls und 33 den Hohlraum umgebenden Ca-Atomen von Bet v 1.2801 effektiv auf einen Bereich innerhalb von etwa 7,5  $\mathring{A}$  um einen Punkt in der Mitte des Hohlraums herum beschränkt wurden. Diese 60 Komplexstrukturen wurden dann noch weiteren 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) unterzogen, wobei für die nichkovalenten Wechselwirkungen anstelle eines rein abstoßenden Potentials vierter Ordnung (3.34) nun ein Lennard-Jones-Potential (3.31) verwendet wurde. Zur Übertragung auf Pru av 1 wt wurden durch einen Least-Squares-Fit der Atomkoordinaten (Kabsch 1976) des Proteinrückgrats von Pru av 1 wt auf die von Bet v 1.2801 die Castasteron-Moleküle auf die äquivalente Position von Pru av 1 wt gesetzt, gefolgt von 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) mit der ursprünglichen Zielfunktion einschließlich aller bei der Strukturberechnung von Pru av 1 wt verwendeten experimentellen Randbedingungen (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) und der jeweils 33 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen, um sterische Konflikte zu beseitigen, sowie weiteren 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) mit einem Lennard-Jones-Potential (3.31) für die nichkovalenten Wechselwirkungen anstelle eines rein abstoßenden Potentials vierter Ordnung (3.34) einschließlich aller bei der Strukturberechnung von Pru av 1 wt verwendeten experimentellen Randbedingungen (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) und der jeweils 33 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung von Pru av 1 wt verwendeten experimentellen Randbedingungen (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) und der jeweils 33 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen.

Die in Anhang 10.6.12 bzw. 10.6.13 abgedruckten Topologie- und Parameterdateien für Desoxycholat DHO\_top.txt bzw. DHO\_par.txt wurden auf Basis der beiden Desoxycholat-Liganden der Kristallstruktur von Bet v 1.1001 (Markovic-Housley et al. 2003, PDB-Kennung 1FM4) nach Ansetzen von Wasserstoffatomen mit InsightII 98.0 (Molecular Simulations Inc., San Diego, CA, USA) mit Hilfe des HIC-Up Servers (Kleywegt und Jones 1998) erzeugt und anschließend manuell korrigiert. Zur Übertragung auf Pru av 1 wt wurden durch einen Least-Squares-Fit der Atomkoordinaten (Kabsch 1976) des Proteinrückgrats von Pru av 1 wt auf die von Bet v 1.1001 die Desoxycholat-Moleküle auf die äquivalente Position von Pru av 1 wt gesetzt, gefolgt von 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) mit der ursprünglichen Zielfunktion einschließlich aller bei der Strukturberechnung von Pru av 1 wt verwendeten experimentellen Randbedingungen (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) und der jeweils 33 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen (die in der zu Grunde liegenden Kristallstruktur von Bet v 1.1001 im Komplex mit zwei Desoxycholat-Liganden bereits alle erfüllt waren), um sterische Konflikte zu beseitigen, sowie weiteren 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) mit einem Lennard-Jones-Potential (3.31) für die nichkovalenten Wechselwirkungen anstelle eines rein abstoßenden Potentials vierter Ordnung (3.34) einschließlich aller bei der Strukturberechnung von Pru av 1 wt verwendeten experimentellen Randbedingungen (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) und der jeweils 33 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen. Wegen eines sterischen Konfliktes eines der beiden Desoxycholat-Moleküle mit der Seitenkette von His 132 wurden dabei alle Abstandsbeschränkungen, die die Seitenkette von His 132 betrafen, um 1,5 Å gelockert, um der Seitenkette von His 132 eine geringfügige Reorientierung zu erlauben.

Die in Anhang 10.6.13 bzw. 10.6.14 abgedruckten Topologie- und Parameterdateien für Distearoyl-3-sn-phosphatidylcholin (PtdCho) PC2\_top.txt bzw. PC2\_par.txt wurden auf Basis des PtdCho-Liganden der Kristallstruktur von Phosphatidylinositol-Transfer-Protein Isoform α (PITP; Yoder et al. 2001, PDB-Kennung 1FVZ) nach Ansetzen von Wasserstoffatomen mit InsightII 98.0 (Molecular Simulations Inc., San Diego, CA, USA) mit Hilfe des HIC-Up-Servers (Kleywegt und Jones 1998) erzeugt und anschließend manuell korrigiert. Zu beachten ist, dass zwar die Kristallstruktur von PITP im Komplex mit einem Dioleyl-3-snphosphatidylcholin-Molekül experimentell bestimmt und diskutiert wurde (Yoder et al. 2001), die tatsächlich in der PDB hinterlegte Struktur mit der Kennung 1FVZ enthält aufgrund eines Fehlers beim Erstellen der Topologie- und Parameterdateien (M. Yoder, persönliche Mitteilung) jedoch ein Distearoyl-3-sn-phosphatidylcholin-Molekül, da alle C-C-Bindungen der beiden Fettsäureseitenketten länger als 1,50 Å sind und daher von der PDB wie auch von InsightII 98.0 (Molecular Simulations Inc., San Diego, CA, USA) und dem HIC-Up-Server (Kleywegt und Jones 1998) als Einfachbindungen erkannt wurden. Wie bei den Komplexstrukturen mit Castasteron (siehe oben) wurden zunächst durch Simulated Annealing gefolgt von 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) in X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) gemäß einer Protokolldatei ähnlich der in Abschnitt 10.6.8 abgedruckten Protokolldatei sa\_betv4.inp jeweils 60 Komplexstrukturen von Bet v 1.2801 mit einem PtdCho-Molekül modelliert und die Ergebnisse anschließend auf Pru av 1 wt übertragen. Dabei wurden die Atome der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 festgehalten und das N- und das P-Atom des PtdCho-Moleküls durch den in Anhang 10.5.6 abgedruckten Satz von jeweils 33 Abstandsbeschränkungen zwischen dem N- bzw. P-Atom des PtdCho-Moleküls und 33 den Hohlraum umgebenden Ca-Atomen von Bet v 1.2801 effektiv auf einen Bereich innerhalb von etwa 7.5 Å um die zur jeweiligen Position in PITP äquivalente Position herum beschränkt, die durch einen Least-Squares-Fit der Atomkoordinaten (Kabsch 1976) des Proteinrückgrats der vom Dali-Server (Holm und Sander 1993) als äquivalent identifizierten 131 Reste (Abschnitt 1.2.1.5) von Pru av 1 wt auf die von PITP ermittelt wurde. Diese 60 Komplexstrukturen wurden dann noch weiteren 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) unterzogen, wobei für die nichkovalenten Wechselwirkungen anstelle eines rein abstoßenden Potentials vierter Ordnung (3.34) nun ein Lennard-Jones-Potential (3.31) verwendet wurde. Die Übertragung auf Pru av 1 wt erfolgte analog zur Modellierung der Komplexstruktur mit Castasteron (siehe oben).
# 3.3 Strukturanalyse

## 3.3.1 Verwendete Software

Zur Analyse der berechneten Strukturen dienten neben der NIH-Version 1.2.1 (Schwieters et al. 2003) von X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) vor allem PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996), insbesondere für die Torsionswinkel und Sekundärstrukturelemente, sowie WHAT\_CHECK, WHAT IF 19970704-1848 (Vriend und Sander 1993). Die Darstellung der Strukturen erfolgte mit Hilfe von RasMol 2.6 (Sayle 1995), Sybyl 6.5 (Tripos Inc., St. Louis, MO, USA) und InsightII 98.0 (Molecular Simulations Inc., San Diego, CA, USA). Strukturabbildungen wurden mit Hilfe von MolScript 1.4 (Kraulis 1991) und Raster3D 2.2a (Merritt und Murphy 1994) erstellt. Die Berechnung des elektrostatischen Potentials der Moleküloberfläche von holo Bet v 4 erfolgte durch Lösung der Poisson-Boltzmann-Differentialgleichung (Leach 2001, Abschnitt 11.10.4) mit GRASP 1.2 (Nicholls et al. 1991; Nicholls und Honig 1991; Honig und Nicholls 1995) unter Verwendung der Standardparameter (relative Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_r = 2$  für das Protein und  $\epsilon_r = 80$  für Wasser als Lösungsmittel). Zur Berechnung des Rotationsdiffusionstensors und des Trägheitstensors der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung mit dipolaren Kopplungskonstanten diente wie bereits beschrieben (Eisenmann 2001, Abschnitt 3.8.2) das Programm Tensor 2.0 (Dosset et al. 2000) mit den Standardparametern (mittlere N-HN-Bindungslänge 1.02 Å, CSA-Tensor als axialsymmetrisch und koaxial mit dem N-HN-Bindungsvektor angenommen), wobei aus praktischen Gründen auf die Berücksichtigung des Beitrags der beiden Calciumionen zum Trägheitstensor verzichtet wurde. Die Trägheitstensoren und Gyrationsradien aller 25 akzeptierten Strukturen von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung mit dipolaren Kopplungskonstanten erfolgte hingegen mit der NIH-Version 1.2.1 (Schwieters et al. 2003) von X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) unter Berücksichtigung des Beitrags der beiden Calciumionen.

## 3.3.2 Vollständige Kreuzvalidierung

Nach Abschluss der Strukturberechnung stellt sich die Frage nach der Qualität der erhaltenen Strukturen. Aus der Berechnung erhält man zwar eine Vielzahl von Daten, die Hinweise zur Beantwortung dieser Frage geben können; keines dieser Kriterien hält jedoch einer gründlichen Analyse wirklich stand. Ein geringer Wert des die physikalischen Wechselwirkungen beschreibenden Potentialterms  $E_{chem}$  deutet zwar auf eine gute kovalente wie nichtkovalente

lokale Geometrie hin, allerdings beruht die Parametrisierung dieses Terms auf vielen Näherungen und ist dementsprechend unzuverlässig, gerade was die nichtkovalenten Beiträge anbetrifft (siehe Abschnitt 3.2.2.5). Ein umfangreicher Satz an experimentellen Randbedingungen führt zwar zu einer geringen Abweichung der berechneten Strukturen untereinander, den gleichen Effekt hätte aber z. B. auch ein unvollständiges Absuchen des Konformationsraumes in der Anfangsphase des Simulated Annealing; außerdem können auch falsch interpretierte experimentelle Daten die Standardabweichung der Strukturen verringern. Beim Vergleich wichtiger Strukturparameter wie etwa den Torsionswinkeln des Proteinrückgrats mit typischen Werten ergibt sich das Problem, dass eben auch untypische Werte im Einzelfall durchaus vorkommen können. Allen diesen Kriterien gemeinsam ist wegen der Vielzahl der in die Strukturberechnung eingehenden Parameter eine schlechte Vergleichbarkeit der absoluten Werte.

Weniger problematisch erscheint da die Verwendung der Güte der Übereinstimmung der Strukturen mit den experimentellen Daten als Maß für die Qualität der berechneten Strukturen, etwa in Form der Standardabweichung von den Abstandsbeschränkungen. Dabei muss jedoch ein wesentlicher Aspekt berücksichtigt werden: Da nicht alle NOE-Kreuzresonanzen eindeutig identifiziert werden können und man zudem nur relativ grobe Abstandsbeschränkungen aus ihnen ableiten kann (vgl. Abschnitt 3.1.5.1), sind die experimentellen Randbedingungen nur sehr unvollständig, so dass es für die Strukturberechnung notwendig ist, weitere Informationen in Form der physikalischen Wechselwirkungen mit heranzuziehen. Damit ist aber auch klar, dass die Gewichtung der experimentellen Potentialterme relativ zu den physikalischen Potentialtermen einen großen Einfluss auf das Ausmaß der Erfüllung der experimentellen Randbedingungen hat: Sind diese nur unvollständig genug, dann lassen sie sich durch Erhöhung des Gewichtungsfaktors  $w_{exp}$  beliebig gut erfüllen.

Ein ähnliches Phänomen ist auch bei der Strukturbestimmung von Proteinen mit Hilfe der Röntgen-Kristallographie bekannt. Diese Methode beruht darauf, dass man durch eine Fourier-Transformation aus dem gemessenen Beugungsmuster der Röntgenstrahlung die Elektronendichteverteilung der asymmetrischen Einheit des Kristalls berechnen kann, in die sich dann die Atome des Proteins einpassen lassen. Umgekehrt erhält man durch Fourier-Transformation der Elektronendichte der so bestimmten Proteinstruktur ein zu erwartendes Beugungsmuster, so dass man die im so genannten R-Faktor zusammengefassten Abweichungen der für die Beugungsreflexe zu erwartenden Intensitäten von den tatsächlich gemessenen Intensitäten als maßgebliches Kriterium für die Qualität der Struktur verwenden kann. Dabei ist beobachtet worden, dass sich der R-Faktor verbessern lässt, wenn man beim Einpassen des Moleküls in die Elektronendichteverteilung die Zahl der betrachteten Freiheitsgrade der Proteinstruktur erhöht, ohne dass dies zwangsläufig mit einer Verbesserung der Struktur einhergehen würde. Diese Beobachtung kann man dadurch erklären, dass die Zahl der zu bestimmenden Parameter dann die Zahl der in den experimentellen Daten enthaltenen Informationen übersteigt; Hintergrund ist also wiederum die Unvollständigkeit der experimentellen Daten. Aus diesem Grund wurde der so genannte freie R-Faktor eingeführt (Brünger 1992a). Dazu bestimmt man eine Struktur auf der Basis von nur 90 % der Beugungsreflexe, berechnet sich aus dieser Struktur ein zu erwartendes Beugungsbild und betrachtet dann für die Berechnung des R-Faktors nur noch die 10 % der Beugungsreflexe, die bei der Strukturbestimmung nicht berücksichtigt worden sind; diese Vorgehensweise bezeichnet man als Kreuzvalidierung.

Im Gegensatz zu den Beugungsreflexen in der Röntgen-Kristallographie, von denen jeder einzelne Strukturinformationen über die gesamte asymmetrische Einheit trägt, sind Abstandsbeschränkungen aus der NMR-Spektroskopie lokale Strukturinformationen. Dies führt insbesondere dazu, dass manche Abstandsbeschränkungen für die Qualität der berechneten Strukturen besonders wichtig sind, andere hingegen in hohem Maße redundant, oder anders ausgedrückt, dass nicht alle experimentellen Randbedingungen den gleichen Informationsgehalt besitzen. Das Ergebnis einer Kreuzvalidierung kann folglich stark davon abhängen, welche der experimentellen Randbedingungen bei der Strukturberechnung nicht berücksichtigt werden. Daher wurde zur Begutachtung der Qualität der Strukturen von holo Bet v 4 wie schon bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) eine vollständige Kreuzvalidierung der Abstandsbeschränkungen aus den NOE-Kreuzresonanzen eingesetzt (Brünger et al. 1993): Diese wurden in 10 etwa gleich große paarweise disjunkte Teilmengen aufgeteilt. Damit wurden dann 10 Strukturberechnungen durchgeführt, wobei jeweils eine der Teilmengen nicht berücksichtigt wurde; wegen der geringen Anzahl der Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten, der Abstandsbeschränkungen aus Wasserstoffbrücken, der dipolaren Kopplungskonstanten und der chemischen Verschiebungen der  ${}^{13}C\alpha$ - und  ${}^{13}C\beta$ -Kerne wurden von diesen experimentellen Randbedingungen immer alle zu den Berechnungen herangezogen. Um Rechenzeit zu sparen, wurden jeweils lediglich 60 Strukturen berechnet. Von jedem dieser 10 Sätze wurde dann die 21 Strukturen mit den niedrigsten Werten der Zielfunktion E pot ausgewählt und dafür die Standardabweichung von den jeweils nicht bei der Strukturberechnung berücksichtigten Abstandsbeschränkungen berechnet. Aus Studien an einem Modellsystem ist bekannt, dass der Mittelwert dieser 10 Standardabweichungen vom Gewichtungsfaktor w<sub>exp</sub> unabhängig ist und eine Korrelation von 0,99 mit der Genauigkeit der

Struktur zeigt (Brünger et al. 1993), sich also gut als Maß für die Qualität der berechneten Strukturen eignet. Zum Vergleich wurde eine solche vollständige Kreuzvalidierung auch für die im Rahmen der Dissertation von J. Nerkamp (2002) berechneten Strukturen von holo Bet v 4 durchgeführt, wobei von jedem der 10 Sätze von jeweils 60 Strukturen jeweils die 20 Strukturen mit den niedrigsten Werten der Zielfunktion  $E_{pot}$  ausgewählt wurden.

# 4. Experimente und Ergebnisse

## 4.1 Heteronukleare NOEs von Pru av 1 wt

Die heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs (Kay et al. 1989) bei einer Resonanzfrequenz der <sup>1</sup>H-Kerne von 600 MHz konnten wie in Abschnitt 3.1.5.5 beschrieben von 133 der 147 zugeordneten Amidgruppen des Proteinrückgrats von Pru av 1 wt gemessen werden. Sie wurden zusammen mit den chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- und <sup>15</sup>N-Kerne und den skalaren Kopplungskonstanten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000) in der BioMagResBank unter der Kennung 4671 hinterlegt und sind in Anhang 10.4 abgedruckt. Die Auftragung der heteronuklearen {1H}15N-NOEs zusammen mit den Standardabweichungen der Atomkoordinaten der 22 akzeptierten Strukturen von der mittleren Struktur und mit der Anzahl der für die Strukturberechnung verwendeten NOEs (Neudecker 2000, Abschnitt 5.3.1; Neudecker et al. 2001a) über der Position in der Aminosäuresequenz in Abb. 4.1 zeigt, dass die experimentell weniger gut definierte Schleife von Glu 60 bis Tyr 64 eine signifikant erhöhte interne Flexibilität der Proteinrückgrats aufweist, da die heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs von Glu 60, Gly 61 und Tyr 64 mit  $0,489\pm0,018$  bzw.  $0,359\pm0,017$  bzw.  $0,501\pm0,018$  deutlich kleiner sind als der aus der magnetischen Dipol-Dipol-Wechselwirkung und der Anisotropie der chemischen Verschiebung (CSA) berechnete theoretische Wert von 0.83 für eine keine internen Bewegungen ausführende Amidgruppe bei einer Resonanzfrequenz der <sup>1</sup>H-Kerne von 600 MHz (Kay et al. 1989). Auch die räumlich unmittelbar benachbarte Windung von Ala 135 bis Glu 138 der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  zeigt mit heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs unter 0,70 eine leicht erhöhte interne Flexibilität der Proteinrückgrats. Interessanterweise wurde mit  $0,414 \pm 0,017$  einer der niedrigsten Werte für den an einem leichten Knick im ersten Faltblattstrang  $\beta_1$  sitzenden Rest Glu 8 gemessen.

Abb. 4.1 Atomare Standardabweichungen von der mittleren Struktur (oben), Anzahl der für die Strukturberechnung verwendeten NOEs (Mitte) und heteronukleare {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs mit Fehlerbalken (unten) für die einzelnen Aminosäuren. Die Standardabweichungen des Proteinrückgrats sind mit Kreisen eingetragen, die der schweren Atome der Seitenketten mit Dreiecken. Im mittleren Diagramm ist erkennbar, dass für den Bereich von Glu 60 bis Gln 63 kaum Abstandsbeschränkungen aus den NOESY-Spektren gewonnen werden konnten, was zu der im oberen Teil sichtbaren auffällig hohen Schwankung dieser Schleife führt. Bei Pro 14 und Pro 15 wurde dieses Defizit durch die experimentelle Identifizierung von Wasserstoffbrücken kompensiert. Bei den Resten mit den meisten Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen handelt es sich vorwiegend um Reste mit aromatischen Seitenketten wie Phe 19, Tyr 150 und Phe 81. Die Werte der heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs von Val 2, Phe 3 und Thr 122 bis Lys 129 sind die des mit dem nativen Reinigungsprotokoll gereinigten Proteins (Abschnitt 3.1.1). Hohe Standardabweichungen sind meist die Folge einer geringen Anzahl insbesondere an langreichweitigen NOEs auf Grund einer sich in niedrigen Werten des {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs widerspiegelnden erhöhten internen Flexibilität des Proteinrückgrats.



# 4.2 Wechselwirkung von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Lipidliganden

### 4.2.1 Untersuchung der Wechselwirkung von Pru av 1 wt mit Steroiden

Bei Zugabe von 28-Homocastasteron, das sich von dem am weitesten verbreiteten Brassinosteroid Castasteron nur durch Ersetzung der Methylgruppe am C24-Atom durch eine Ethylgruppe unterscheidet (Adam et al. 1999; Fujioka 1999), verschwanden mehrere Amidresonanzen von Pru av 1 wt aus dem <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC (Abb. 4.2), vermutlich durch auf der NMR-Zeitskala intermediäre Austauschprozesse. Interessanterweise umgeben die betroffenen Reste Leu 18, Lys 20, Ala 21, Phe 22, Val 23, Leu 24, Asp 25, Ala 26, Asn 28, Val 30, Ile 38, Lys 54, Lys 55, Ile 56, Lys 68, Lys 70, Ile 71, Tyr 81, Leu 85, Asp 89, Lys 103 und Ile 128 den unteren Teil des hydrophoben Hohlraums von Pru av 1 wt wie ein Trichter (Abb. 4.6).

Ein ähnliches Bild ergab die Titration von Pru av 1 wt mit dem besser wasserlöslichen Steroid Desoxycholat (Abb. 4.3), obwohl wegen der für ein Protein der Größe von Pru av 1 wt nicht ausreichenden Auflösung von 1D-1H-Spektren nur ein kleiner Teil der Resonanzen gut verfolgt werden konnte. Die Amidprotonenresonanzen von Lys 70, Leu 85 und Tyr 120, die Aromatenringprotonenresonanzen von Tyr 83 sowie die Methylgruppenresonanzen von Val 23 und Ile 98 wiesen eine deutliche Linienverbreiterung und teilweise auch Linienverschiebung auf, vermutlich durch auf der NMR-Zeitskala intermediäre bis schnelle Austauschprozesse. Mit Ausnahme von Lys 70, dessen Amidprotonenresonanz auch bei Zugabe von 28-Homocastasteron verschwand (siehe oben), sind die Seitenketten aller betroffenen Reste an der Auskleidung des hydrophoben Hohlraums beteiligt. Die <sup>1</sup>H-Resonanzen von Desoxycholat waren bei in etwa stöchiometrischen Bedingungen unter den vielen <sup>1</sup>H-Resonanzen von Pru av 1 wt kaum auszumachen und dürften zudem ebenfalls eine deutliche Linienverbreiterung zeigen, bei hohem Überschuss jedoch waren die <sup>1</sup>H-Resonanzen von Desoxycholat deutlich erkennbar, wenn auch wiederum mit starker Linienverbreiterung (Abb. 4.4). Diese Linienverbreiterung scheint eine Folge der Wechselwirkung mit Pru av 1 wt zu sein und nicht etwa der bei der kritischen Mizellenkonzentration (CMC) von etwa 2 mM bis 6 mM bei niedriger Ionenstärke (Bagby et al. 2001) einsetzenden Mizellenbildung, da in Kontrollexperimenten ohne Pru av 1 wt erst bei Konzentrationen von weit über 10 mM der Anteil an in Mizellen eingebundenem Desoxycholat so hoch war, dass sich dies in Form einer deutlich erkennbaren Linienverbreiterung des 1D-<sup>1</sup>H-Spektrums niederschlug (Abb. 4.4).



Abb. 4.2 Überlagerung der <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektren von einfach markiertem Pru av 1 wt mit (positive Signale in rot, negative Signale in grün) und ohne (positive Signale in schwarz, negative Signale in blau) 28-Homocastasteron in 10 % (v/v) DMSO-d<sub>6</sub>. Die Resonanzen der Amidprotonen sind mit ihrer Position in der Aminosäuresequenz bezeichnet. Negative Signale sind in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 gefaltet.



Abb. 4.3 Überlagerung der 1D-<sup>1</sup>H-Spektren einer Titrationsreihe von Pru av 1 wt mit von unten nach oben zunehmender Konzentration an Natriumdesoxycholat. Die scharfe Resonanz bei 0,00 ppm stammt von DSS zur Referenzierung der chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne. Besonders gut erkennbar ist die zunehmende Linienverbreiterung und teilweise auch Linienverschiebung der Amidprotonenresonanzen von Tyr 120 bei 10,04 ppm, von Leu 85 bei 9,77 ppm und von Lys 70 bei 9,68 ppm, der Aromatenringprotonenresonanzen von Tyr 83 bei 6,06 ppm und 5,88 ppm sowie der Methylgruppenresonanzen von Val 23 bei 0,08 ppm und -0,30 ppm und von Ile 98 bei -0,31 ppm.



4.5 4.0 3.5 3.0 2.5 2.0 1.5 1.0 0.5 PPM Abb. 4.4 Überlagerung der 1D-<sup>1</sup>H-Spektren von (von unten nach oben)  $0,3 \, mM$  Natriumdesoxycholat, 10 mM Natriumdesoxycholat, 20 mM Natriumdesoxycholat sowie 3,1 mM Natriumdesoxycholat mit  $157 \mu M$  Pru av 1 wt (Konzentrationsverhältnis 20:1). Die scharfe Resonanz bei 0,00 ppm stammt von DSS zur Referenzierung der chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne. Die Mizellenbildung führt zu einer Linienverbreiterung der <sup>1</sup>H-Resonanzen von Desoxycholat mit zunehmender Konzentration. Bei hohem Überschuss an Desoxycholat gegenüber Pru av 1 wt (oben) sind die <sup>1</sup>H-Resonanzen von Desoxycholat deutlich erkennbar, wenn auch mit stark verbreiterten Linien.

### 4.2.2 Modellierung der Komplexstruktur von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Lipidliganden

Bet v 1.2801 (Gajhede et al. 1996) und Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) bilden einen großen, verzweigten, etwa 30 Å langen hydrophoben Hohlraum mit einem Volumen von etwa 1600 Å<sup>3</sup> (Abb. 4.6), der an der Oberfläche des Proteins drei Öffnungen besitzt, eine kleine zwischen dem NH<sub>2</sub>-terminalen Faltblattstrang  $\beta_1$  und der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$ , eine kleine an der P-Schleife und eine deutlich größere, interessanterweise gerade zwischen der flexiblen Schleife Glu 60 bis Gln 63 und dem weniger stabilen Bereich der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  (Abschnitt 4.1.1) gelegene. Eine Untersuchung der durch die Größe und Form des Hohlraums bedingten Einschränkung der Position und Orientierung gebundener Steroidmoleküle durch Modellierung der Komplexstrukturen zeigte, dass der Hohlraum von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt groß genug ist, ohne signifikante strukturelle Änderungen ein oder zwei Castasteron-Moleküle in mehreren verschiedenen Positionen und Orientierungen aufzunehmen (Abb. 4.5 und Abb. 4.6). Eine Analyse der Kontakte zwischen Bet v 1.2801 bzw. Pru av 1 wt und den Castasteron-Molekülen in den als repräsentativ ausgewählten Modellen mit LIGPLOT 4.0 (Wallace et al. 1995) ergab jeweils eine Reihe hydrophober Kontakte.

Bei der ein gutes Jahr nach Durchführung dieser Modellierungen veröffentlichten Kristallstruktur von Bet v 1.1001 im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen (Markovic-Housley et al. 2003, PDB-Kennung 1FM4) ist die Seitenkette von Gln 132 gegenüber der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 (Gajhede et al. 1996, PDB-Kennung 1BV1) weit nach außen geklappt, um Platz für die Seitenkette eines der beiden Desoxycholat-Moleküle zu schaffen (Abb. 4.7). Bei der Übertragung auf Pru av 1 wt wurde daher der dazu äquivalenten Seitenkette von His 132 eine geringfügige Reorientierung zur Reduzierung dieses sterischen Konflikts erlaubt (Abschnitt 3.2.6). Trotzdem wurde das betroffene Desoxycholat-Molekül durch diesen sterischen Konflikt gegenüber der Kristallstruktur von Bet v 1.1001 im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen (Markovic-Housley et al. 2003, PDB-Kennung 1FM4) noch etwas tiefer in den Hohlraum gedrückt (Abb. 4.7). Eine Analyse der Kontakte zwischen Bet v 1.1001 bzw. Pru av 1 wt und den Desoxycholat-Molekülen mit LIGPLOT 4.0 (Wallace et al. 1995) ergab zusätzlich zu jeweils einer Reihe hydrophober Kontakte, dass die Wasserstoffbrücke zwischen der Carboxylatgruppe des tiefer im Hohlraum liegenden Desoxycholat-Moleküls und der Hydroxylgruppe von Tyr 120, dessen Amidprotonenresonanz interessanterweise bei der Titrationsreihe mit Desoxycholat (Abb. 4.3), aber nicht bei Zugabe von 28-Homocastasteron (Abb. 4.2) verschwand, bei Pru av 1 wt konserviert zu sein scheint (Abb. 4.6),

ebenso wie die Wasserstoffbrücke zwischen der Carboxylatgruppe des weniger tief im Hohlraum liegenden Desoxycholat-Moleküls und der Hydroxylgruppe von Thr 94. Die Wasserstoffbrücke zwischen der Carboxylatgruppe des weniger tief im Hohlraum liegenden Desoxycholat-Moleküls und der Seitenkette des nicht konservierten His 126 bei Bet v 1.1001 könnte bei Pru av 1 wt durch eine Wasserstoffbrücke zwischen der Hydroxylgruppe am C12-Atom des weniger tief im Hohlraum liegenden Desoxycholat-Moleküls und der Seitenkette von His 132 ersetzt sein (Abb. 4.6). Die Konserviertheit der anderen in der Kristallstruktur von Bet v 1.1001 im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen beobachteten intermolekularen Wasserstoffbrücken (Markovic-Housley et al. 2003) war aus der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen nicht eindeutig abzuleiten.

Das Steroidgrundgerüst des tiefer im Hohlraum liegenden Castasteron-Moleküls liegt in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Castasteron-Molekülen bei ähnlicher Orientierung um etwa den Durchmesser eines Ringes (ca. 3 Å) tiefer im Hohlraum als das Steroidgrundgerüst des tiefer im Hohlraum liegenden Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen (Abb. 4.7) und nutzt dadurch den im Hohlraum verfügbaren Platz etwas besser aus. Das Steroidgrundgerüst des weniger tief im Hohlraum liegenden Castasteron-Moleküls befindet sich in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Castasteron-Molekülen zwar an einer ähnlichen Position wie das Steroidgrundgerüst des weniger tief im Hohlraum liegenden Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Moleküls in der Mo

# 4. Experimente und Ergebnisse



Abb. 4.5 Überlagerung des Proteinrückgrats der Pru av 1 wt-Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  (grün) und des Proteinrückgrats der Bet v 1.2801-Kristallstruktur (orange) im Komplex mit einem (oben) bzw. zwei (unten) Castasteron-Molekülen (repräsentative Modelle). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2 und Abb. 1.6. Zwischen den beiden Proteinen sind kaum Unterschiede in der Faltung zu erkennen, mit Ausnahme der mit einem Pfeil markierten schleifenartigen Region im Vordergrund. Die Kristallstruktur von Bet v 1.2801 besteht an dieser Stelle, genauer gesagt von Glu 60 bis Lys 65, aus zwei Konformeren, von denen hier nur eines dargestellt ist.



Abb. 4.6 Visualisierung des hydrophoben Hohlraumes. Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 1.6 und Abb. 4.5. Eine Stäbchen-Darstellung der schweren Atome des Proteinrückgrats der Pru av 1 wt-Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  ist in rot gezeigt, und der Hohlraum ist durch blaue Linien angedeutet. Ebenfalls dargestellt sind die Seitenketten der Reste, deren Amidresonanzen bei Zugabe von 28-Homocastasteron aus dem <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC verschwanden (oben). Diese Reste sind gelb eingefärbt. Die Position von einem (unten) bzw. zwei (nächste Seite oben) Castasteron-Molekülen im Hohlraum in repräsentativen Modellen sind grün dargestellt.

# 4. Experimente und Ergebnisse



Abb. 4.6 Visualisierung des hydrophoben Hohlraumes (Fortsetzung). Die zu der von zwei Desoxycholat-Molekülen im Hohlraum in einer Kristallstruktur von Bet v 1.1001 äquivalente Position ist grün dargestellt (unten), Reste mit in einer Titrationsreihe mit Desoxycholat aus dem 1D <sup>1</sup>H-Spektrum verschwundenen Resonanzen sowie die vermutlich an Wasserstoffbrücken beteiligten Seitenketten von Thr 94, Tyr 120 und His 132 sind gelb eingefärbt.



Abb. 4.7 Überlagerung des Proteinrückgrats der Pru av 1 wt-Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  (grün) und des Proteinrückgrats der Bet v 1.1001-Kristallstruktur (orange) im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen (oben) sowie Überlagerung des Proteinrückgrats der Pru av 1 wt-Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  (grün) im Komplex mit zwei Castasteron-Molekülen und mit zwei Desoxycholat-Molekülen (unten). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 1.6, Abb. 4.5 und Abb. 4.6. Ebenfalls dargestellt ist die Seitenkette von His 132 (Pru av 1 wt) bzw. Gln 132 (Bet v 1.1001).

## 4. Experimente und Ergebnisse



Abb. 4.8 Überlagerung des Proteinrückgrats der Pru av 1 wt-Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  (grün), des Proteinrückgrats der Bet v 1.2801-Kristallstruktur (orange) und des Proteinrückgrats der PITP-Kristallstruktur (blau) im Komplex mit einem PtdCho-Molekül. Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 1.6 und Abb. 4.5 bis Abb. 4.7. Die Faltung der drei Proteine ist mit Ausnahme einiger Schleifen, insbesondere auch der P-Schleife zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_2$  und  $\beta_3$  von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt (ganz unten, vgl. Abb. 1.2) im Wesentlichen identisch, im Innern verbleibt ein großer hydrophober Hohlraum. PITP besitzt zwischen den zu  $\beta_6$  und  $\beta_7$  von Bet v 1 und Pru av 1 (vgl. Abb. 1.2) äquivalenten Faltblattsträngen eine weitgehend schleifenartige regulatorische Subdomäne mit einem zusätzlichen  $\beta$ -Faltblattstrang und drei kurzen  $\alpha$ -helikalen Bereichen (ganz oben, nur teilweise dargestellt) sowie am COOH-Terminus eine zusätzliche  $\alpha$ -Helix (ganz vorne).

Der Hohlraum von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt ist auch groß genug, ohne signifikante strukturelle Änderungen ein PtdCho-Molekül in mehreren verschiedenen Positionen und Orientierungen aufzunehmen (Abb. 4.8 und Abb. 4.9). In den als repräsentativ ausgewählten Modellen liegt die Kopfgruppe des PtdCho-Moleküls gegenüber der Kristallstruktur von PITP im Komplex mit einem PtdCho-Molekül (Yoder et al. 2001, PDB-Kennung 1FVZ) bei Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt etwas tiefer im Hohlraum (Abb. 4.8). Außerdem ist die Position der beiden Fettsäureseitenketten vertauscht, die Fettsäureseitenkette an der 1-*sn*-Position liegt jetzt auf der Seite des durch die Faltblattstränge  $\beta_1$ ,  $\beta_7$ ,  $\beta_6$ ,  $\beta_5$  und  $\beta_4$  gebildeten Faltblatts und die Fettsäureseitenkette an der 2-*sn*-Position auf der Seite des durch die Faltblattstränge  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , und  $\beta_4$  gebildeten Faltblatts von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt, was jedoch unerheblich sein dürfte. Die beiden Fettsäureseitenketten füllen den verzweigten hydrophoben Hohlraum von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt so gut aus, dass sie die lange COOH-terminale Helix  $\alpha_3$  wie eine Gabel umfassen (Abb. 4.8 und Abb. 4.9). Eine Analyse der Kontakte zwischen Bet v 1.2801 bzw. Pru av 1 wt und dem PtdCho-Molekül mit LIGPLOT 4.0 (Wallace et al. 1995) ergab zusätzlich zu jeweils einer Reihe hydrophober Kontakte interessanterweise eine mögliche elektrostatische Wechselwirkung der negativ geladenen Phosphatgruppe des PtdCho-Moleküls mit der positiv geladenen Seitenkette von Lys 54 (Abb. 4.9), das innerhalb der Bet v 1-Familie hochkonserviert ist (Abschnitt 1.2.1.4).



Abb. 4.9 Visualisierung des hydrophoben Hohlraumes mit einem PtdCho-Molekül. Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 1.6 und Abb. 4.5 bis Abb. 4.8. Eine Stäbchen-Darstellung der schweren Atome des Proteinrückgrats der Pru av 1 wt-Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  ist in rot gezeigt, und der Hohlraum ist durch blaue Linien angedeutet. Ebenfalls dargestellt ist die möglicherweise an einer elektrostatischen Wechselwirkung mit der Phosphatgruppe des PtdCho-Moleküls beteiligte Seitenkette von Lys 54. Dieser Rest ist gelb eingefärbt. Die Position von einem PtdCho-Molekül im Hohlraum in einem repräsentativen Modell ist grün dargestellt.

# 4.3 Verbesserung der Effizienz des gaußförmigen Datenbank-Potentials

Als Beispiel zur Untersuchung der Auswirkungen der Einführung eines Grenzwertes für das gaußförmige Datenbank-Potential wie in Abschnitt 3.2.3.5 beschrieben wurde die Strukturberechnung von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) mit mehreren verschiedenen Grenzwerten wiederholt (Neudecker et al. 2001b). Die unter der Kennung 1E09 in der PDB hinterlegten 22 Strukturen sind das Ergebnis der Berechnung von 60 Strukturen mit X- PLOR 3.851 (Brünger 1992b) gemäß dem dem in Abschnitt 3.2.4 beschriebenen und in Anhang 10.6.8 abgedruckten sa\_betv4.inp sehr ähnlichen dreiphasigen Simulated-Annealing-Protokoll sa\_prual.inp unter Verwendung von 2438 experimentellen Randbedingungen aus NMR-Experimenten (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) unterstützt von der mit einem Faktor 3,0 in der Zielfunktion gewichteten ursprünglichen Version des Datenbank-Potentials (Kuszewski et al. 1996), was insgesamt 168,8 h CPU-Zeit auf einem mit vier jeweils mit 400 MHz getakteten Ultra Sparc II Prozessoren bestückten Sun Ultra Enterprise 450 Server (Sun Microsystems Inc., Palo Alto, CA, USA) benötigte, 13,2 h oder 8 % mehr als die Berechnung von 60 Strukturen ohne Datenbank-Potential (Tab. 4.1). Die Verwendung der mit dem wegen eines anderen Skalierungsfaktors  $k_{db}$  (Abschnitt 3.2.3.5) in etwa äquivalenten Faktor 1,0 in der Zielfunktion gewichteten gaußförmigen Version des Datenbank-Potentials (Kuszewski und Clore 2000) hingegen erhöhte die benötigte CPU-Zeit um 769,7 h oder 495 %. Mit Grenzwerten von beispielsweise 10,0 bzw. 7,5 bzw. 5,0 Standardabweichungen konnte diese Erhöhung der benötigten CPU-Zeit auf 559,0 h oder 359 % bzw. 411,5 h oder 264 % bzw. 257,0 h oder 165 % verringert werden. Tab. 4.1 zeigt, dass alle Versionen des Datenbank-Potentials die stereochemischen Eigenschaften der Strukturen deutlich verbesserten, was sich in einem signifikant höheren Anteil der Aminosäuren in sterisch besonders bevorzugten Konformationen des Ramachandran-Plots sowie in einer deutlichen Verbesserung der mit WHAT CHECK (Vriend und Sander 1993) beurteilten Proteinpackung widerspiegelt. Die atomaren Standardabweichungen zwischen den gemittelten Strukturen sind allesamt kleiner als 0.65 Åfür das Proteinrückgrat und 0.85 Å für alle schweren Atome, was die Einführung eventueller schwerwiegender Artefakte durch irgendeine Version des Datenbank-Potentials ausschließt. In Gegensatz dazu sind die Unterschiede der Werte der Zielfunktion  $E_{pot}$ , der atomaren Standardabweichungen von der jeweiligen mittleren Struktur, der stereochemischen Eigenschaften und der Atomkoordinaten innerhalb der Strukturberechnungen mit Datenbank-Potential nur marginal, unabhängig von der Version und dem Grenzwert. Interessanterweise sind die 60 die Atomkoordinaten enthaltenden Dateien aus der Strukturberechnung mit dem Standard-Grenzwert von 10.0 Standardabweichungen identisch mit denen aus der Strukturberechnung ohne Grenzwert, d. h. mehr als 25 % der Erhöhung der benötigten CPU-Zeit konnten eingespart werden, ohne die Ergebnisse der Strukturberechnung überhaupt zu beeinflussen. Tab. 4.2 enthält eine Zusammenfassung der wichtigsten Strukturparameter der 22 akzeptierten Strukturen aus einer dieser beiden Strukturberechnungen.

X-PLOR Version	3.851	3.851	3.840	3.840	3.840	3.840
Datenbank-Potential	keines	diskret <sup>a</sup>	gaußförmig <sup>b</sup>	gaußförmig <sup>b</sup>	gaußförmig <sup>b</sup>	gaußförmig <sup>b</sup>
Gewichtungsfaktor	n/a	3,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Grenzwert / Standardabweichungen	n/a	n/a	keiner	10,0	7,5	5,0
Anzahl der berechneten Strukturen	60	60	60	60	60	60
Anzahl der akzeptierten Strukturen	24	22	22	22	25	29
Zielfunktion $E_{pot}^{c,d}$ / kcal/mol	233 ± 9	244 ± 7	240 ± 8	240 ± 8	244 ± 8	241 ± 6
RMSD <sup>c,e</sup> des Proteinrückgrats / Å	0,61 ± 0,10	0,60 ± 0,09	0,59 ± 0,10	0,59 ± 0,10	0,62 ± 0,12	0,61 ± 0,10
RMSD <sup>c,e</sup> aller schweren Atome / Å	$\begin{array}{c} 1,\!00\\ \pm0,\!12\end{array}$	0,93 ± 0,09	0,93 ± 0,11	0,93 ± 0,11	0,93 ± 0,12	$0,95 \pm 0,09$
Aminosäuren in sterisch besonders bevorzugten Konformationen des Ramachandran-Plots <sup>f</sup> / %	76,6	82,4	82,6	82,6	81,7	82,6
Aminosäuren in sterisch günstigen Konformationen des Ramachandran-Plots <sup>f</sup> / %	21,1	16,6	16,1	16,1	16,9	15,9
Aminosäuren in sterisch ungünstigen Konformationen des Ramachandran-Plots <sup>f</sup> / %	2,0	1,0	1,2	1,2	1,3	1,5
Aminosäuren in sterisch verbotenen Konformationen des Ramachandran-Plots <sup>f</sup> / %	0,2	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1
Z-Score der Proteinpackung <sup>c,g</sup>	-1,49 ± 0,27	-0,54 ± 0,27	-0,82 ± 0,30	-0,82 ± 0,30	-0,79 ± 0,28	-0,80 ± 0,24
RMSD des Proteinrückgrats von den PDB-Strukturen <sup>h</sup> / Å	0,65	0,00	0,41	0,41	0,43	0,35
RMSD aller schweren Atome von den PDB-Strukturen <sup>h</sup> / Å	0,85	0,00	0,56	0,56	0,58	0,48
RMSD des Proteinrückgrats von den Strukturen ohne Grenzwert <sup>i</sup> / Å	0,48	0,41	0,00	0,00	0,17	0,17
RMSD aller schweren Atome von den Strukturen ohne Grenzwert <sup>i</sup> / Å	0,72	0,56	0,00	0,00	0,27	0,26
Insgesamt benötigte CPU-Zeit / h	155,6	168,8	925,3	714,6	567,1	412,6

#### Tab. 4.1 Vergleich der Strukturberechnungen von Pru av 1 wt mit verschiedenen Versionen des Datenbank-Potentials.

a Kuszewski et al. 1996

b Kuszewski und Clore 2000

c Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die akzeptierten Strukturen nach dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung.

d Zielfunktion E pot aus Gründen der Vergleichbarkeit ohne Datenbank-Potential

e atomare Standardabweichungen von der mittleren Struktur

f Bestimmt mit PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996).

g Bestimmt mit WHAT\_CHECK, WHAT IF 19970704-1848 (Vriend und Sander 1993).

h atomare Standardabweichungen der mittleren Struktur von der mittleren Struktur der unter der Kennung 1E09 in der PDB hinterlegten 22 Strukturen aus der Strukturberechnung mit der ursprünglichen Version des Datenbank-Potentials (Kuszewski et al. 1996)

i atomare Standardabweichungen der mittleren Struktur von der mittleren Struktur der 22 Strukturen aus der Strukturberechnung mit der gaußförmigen Version des Datenbank-Potentials (Kuszewski und Clore 2000) ohne Grenzwert

Für die Strukturberechnung verwendete experimentelle Randbedingungen						
Intraresiduale NOEs		658				
Interresiduale NOEs	sequentiell	729				
	mittelreichweitig	330				
	langreichweitig	582				
Beschränkungen der Diederwinkel		71				
Wasserstoffbrücken		34				
Statistik der Moleküldynamik-Simulation						
Energien / kcal/mol	E pot	$240\pm8$				
	$E_{bonds}$	$7,0\pm0,5$				
	E angles	$178\pm3$				
	E impropers	$21,\!6\pm0,\!8$				
	$E_{VdW}$	$13,7 \pm 1,6$				
	$E_{NOE}$	$20\pm4$				
	$E_{cdih}$	$0,051 \pm 0,025$				
Standardabweichungen von den idealen Abständen / Å	Bindungslängen	$0,00167 \pm 0,00006$				
	Abstandsbeschränkungen	$0,0129 \pm 0,0013$				
Standardabweichungen von den idealen Winkeln / $^{\circ}$	Bindungswinkel	$0{,}507 \pm 0{,}004$				
	Diederwinkel	$0,\!434 \pm 0,\!006$				
	Diederwinkelbeschränkungen	$0,033 \pm 0,008$				
Atomare Standardabweichungen von der mittleren Struktur						
	Proteinrückgrat	Schwere Atome				
Gesamte Struktur <sup>a</sup>	0,59 Å $\pm$ 0,10 Å	0,93 Å ± 0,11 Å				
Reguläre Sekundärstruktur <sup>b</sup>	0,46 Å $\pm$ 0,10 Å	0,75 Å $\pm$ 0,08 Å				
β-Faltblätter <sup>c</sup>	$0,30 \text{ \AA} \pm 0,06 \text{ \AA}$	0,61 Å $\pm$ 0,06 Å				
COOH-terminale $\alpha$ -Helix <sup>d</sup>	0,47 Å $\pm$ 0,18 Å	0,88 Å $\pm$ 0,13 Å				

Tab. 4.2 Zusammenfassung der Strukturberechnung von Pru av 1 wt mit der gaußförmigen Version des Datenbank-Potentials mit einem Grenzwert von mindestens 10,0 Standardabweichungen. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die 22 akzeptierten Strukturen nach dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung, abgesehen von den verwendeten experimentellen Randbedingungen. a Aminosäuren 1 - 159

b Aminosäuren 2 - 58, 65 - 85, 97 - 104, 112 - 122, 130 - 153

c Aminosäuren 2 - 11, 41 - 58, 65 - 85, 97 - 104, 112 - 122

d Aminosäuren 130 - 153

# 4.4 Korrektur der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie

Bei der Korrektur zur Reduzierung der durch Inkonsistenzen in der die Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie enthaltenden Datei parallhdg.pro (Brünger 1992b) bzw. ihrer für die indirekte stereospezifische Zuordnung der Resonanzen (Abschnitt 3.2.4) hinsichtlich der Prochiralität an den C $\beta$ -Atomen von Isoleucin und Valin sowie am C $\gamma$ -Atom von Leucin modifizierten Version parallhdg.hs (Beißinger et al. 1998; Sticht et al. 1998) verursachten hohen Bindungswinkelenergien  $E_{angles}$  wurde aus Kompatibilitätsgründen auf die Einführung neuer Atomtypen verzichtet, damit die die Standardtopologie enthaltende Datei topallhdg.pro (Brünger 1992b) bzw. topallhdg.hs (Beißinger et al. 1998; Sticht et al. 1998) und die damit erzeugten PSF-Dateien weiterverwendet werden konnten. Im Einzelnen wurden an parallhdg.hs folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Die idealen Bindungswinkel zwischen jeweils den drei Atomtypen CT-CT-NH1, CT-CT-NH2 und CT-CT-NH3, die mit bisher  $\theta_0 = 104,0^\circ$  die ansonsten tetraedrische Geometrie an den C $\alpha$ -Atomen mit Ausnahme von Glycin empfindlich störten, wurden auf tetraedrische Winkel von  $\theta_0 = 109,5^\circ$  zurückgesetzt. Dieser Wert stimmt auch deutlich besser mit dem aus statistischen Auswertungen von mit Hilfe von Röntgenkristallographie bestimmten Strukturen kleinerer Moleküle erhaltenen Wert von 110,5° (Engh und Huber 1991) überein.
- b) Zur Reduzierung der Inkonsistenz in der Parametrisierung der Prolin-Ringe wurden alle idealen Bindungslängen und Bindungswinkel zwischen den schweren Atomen, die ausschließlich in Prolin vorkommen und sich daher unabhängig von den anderen Aminosäuren modifizieren ließen, auf die aus statistischen Auswertungen von mit Hilfe von Röntgenkristallographie bestimmten Strukturen kleinerer Moleküle erhaltenen Werte (Engh und Huber 1991) gesetzt, soweit sie bisher anderes parametrisiert waren, und zwar die idealen Bindungslängen zwischen jeweils den zwei Atomtypen CT-N auf  $d_0 = 1,466 \text{ Å}$ , CP-CP auf  $d_0 = 1,503 \text{ Å}$ , CP-CT auf  $d_0 = 1,492 \text{ Å}$ , CP-N auf  $d_0 = 1,473 \text{ Å}$ , CP-NH3 auf  $d_0 = 1,473 \text{ Å}$  sowie C-N auf  $d_0 = 1,341 \text{ Å}$  und die idealen Bindungswinkel zwischen jeweils den drei Atomtypen C-CT-N auf  $\theta_0 = 111,8^\circ$ , C-N-CT auf  $\theta_0 = 122,6^\circ$ , CT-C-N auf  $\theta_0 = 116.9^\circ$ , CT-CT-N auf  $\theta_0 = 103.0^\circ$ , N-C-O auf  $\theta_0 = 122.0^\circ$ , CT-NH3-CP auf  $\theta_0 = 112,0^\circ$  sowie CP-CP-NH3 auf  $\theta_0 = 103,2^\circ$ . Für die Bindungsgeometrieparameter unter Beteiligung von Wasserstoffatomen wurde der ideale Bindungswinkel zwischen den drei Atomtypen HA-CP-HA auf  $\theta_0 = 109,5^{\circ}$  belassen und der ideale Bindungswinkel zwischen den drei Atomtypen HA-CP-CP auf  $\theta_0 = 110,5^\circ$  gesetzt, der einen guten Kompromiss für die gleichzeitige Optimierung der Bindungsgeometrie am Cy-Atom und am Cô-Atom darstellt. Damit verblieb an jedem der vier Kohlenstoffatome des Prolin-Rings noch ein unabhängiger idealer Bindungswinkel. Zu deren Optimierung wurde die Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion E pot des 8 Prolin-Reste enthaltenden Pru av 1 wt aus der Strukturberechnung unter Verwendung des gaußförmigen Datenbank-Potentials ohne Grenzwert (Neudecker et al. 2001b; Abschnitt 4.3) mit einem Protokoll ähnlich dem

in Anhang 10.6.8 abgedruckten min\_sam22\_sani\_j.inp mehrmals weiteren 1000 Schritten einer Powell-Energieminimierung ohne Datenbank-Potential unterzogen (siehe Abschnitt 3.2.4), wobei durch systematische Variation von jeweils einem dieser vier idealen Bindungswinkel in Schritten von 0,5° iterativ bis zur Konvergenz der Parametersatz bestimmt wurde, der nach der Powell-Energiminimierung den niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  lieferte. Daraus ergaben sich die idealen Bindungswinkel zwischen jeweils den drei Atomtypen HA-CT-N zu  $\theta_0 = 112,0^\circ$ , HA-CT-CP zu  $\theta_0 = 111,5^\circ$ , HA-CP-CT zu  $\theta_0 = 109,5^\circ$  sowie HA-CP-N zu  $\theta_0 = 111,5^\circ$ . Im Falle eines NH<sub>2</sub>-terminalen Prolin-Restes verblieben zwei weitere unabhängige ideale Bindungswinkel, die anhand der virtuellen Mutante Pru av 1 G1P in gleicher Weise optimiert wurden. Daraus ergaben sich die idealen Bindungswinkel zwischen jeweils den drei Atomtypen HC-NH3-CP zu  $\theta_0 = 109,0^{\circ}$  sowie HA-CP-NH3 zu  $\theta_0 = 111,5^{\circ}$ . Die Topologiedatei topallhdg.hs und die korrigierte Parameterdatei parallhdg\_min.pn wurden mit den Atomkoordinaten und den verwendeten experimentellen Randbedingungen von Bet v 4 in der PDB hinterlegt (Abschnitt 4.7.3.1) und sind in Anhang 10.6.1 bzw. 10.6.3 abgedruckt.

Als Maßstab für den Erfolg der Korrektur der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie diente wie oben beschrieben der Wert der Zielfunktion E pot mit der korrigierten Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie nach 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) der Struktur mit dem niedrigsten Wert der ursprünglichen Zielfunktion E pot von Pru av 1 wt aus der Strukturberechnung unter Verwendung des gaußförmigen Datenbank-Potentials ohne Grenzwert (Neudecker et al. 2001b; Abschnitt 4.3). Durch 1000 Schritte Powell-Energieminimierung (Powell 1977) mit der ursprünglichen Zielfunktion E pot zur Kontrolle verringerte sich der Wert der Zielfunktion von ursprünglich  $E_{pot} = 229.5 \frac{kcal}{mol}$  auf  $E_{pot} = 222.7 \frac{kcal}{mol}$  und die Energie der Bindungswinkel von ursprünglich  $E_{angles} = 173,7 \frac{kcal}{mol}$  auf  $E_{angles} = 171,6 \frac{kcal}{mol}$ . Durch das Zurücksetzen der idealen Geometrie an den Ca-Atomen auf tetraedrische Winkel und das Setzen idealen Bindungslängen und Bindungswinkel zwischen den schweren Atomen, die ausschließlich bei Prolin vorkommen, auf die Werte von Engh und Huber (1991) konnte der Wert der Zielfunktion auf  $E_{pot} = 80,2 \frac{kcal}{mol}$ und die Energie der Bindungswinkel auf  $E_{angles} = 41,7 \frac{kcal}{mol}$  gesenkt werden, und durch Optimierung der idealen Bindungswinkel unter Beteiligung von Wasserstoffatomen, die ausschließlich bei Prolin vorkommen, schließlich auf  $E_{pot} = 64.5 \frac{kcal}{mol}$  und  $E_{angles} = 26.6 \frac{kcal}{mol}$ .

Statistik der Moleküldynamik-Simulation						
Energien / kcal/mol	E pot	$73\pm9$				
	E bonds	$4,9 \pm 0,6$				
	E angles	$29,4 \pm 2,7$				
	E impropers	$6{,}5\pm0{,}7$				
	$E_{_{VdW}}$	$12,4 \pm 1,8$				
	$E_{NOE}$	$20\pm5$				
	$E_{cdih}$	$\textbf{0,034} \pm \textbf{0,022}$				
Standardabweichungen von den idealen Abständen / Å	Bindungslängen	$0,\!00139 \pm 0,\!00009$				
	Abstandsbeschränkungen	$0,\!0129 \pm 0,\!0014$				
Standardabweichungen von den idealen Winkeln / $^{\circ}$	Bindungswinkel	$0{,}206\pm0{,}010$				
	Diederwinkel	$0,\!342\pm0,\!007$				
	Diederwinkelbeschränkungen	$0{,}027 \pm 0{,}008$				
Atomare Standardabweichungen von der mittleren Struktur						
	Proteinrückgrat	Schwere Atome				
Gesamte Struktur <sup>a</sup>	0,59 Å $\pm$ 0,10 Å	0,93 Å ± 0,11 Å				
Reguläre Sekundärstruktur <sup>b</sup>	0,46 Å $\pm$ 0,10 Å	0,75 Å $\pm$ 0,08 Å				
β-Faltblätter <sup>c</sup>	0,30 Å $\pm$ 0,06 Å	0,60 Å $\pm$ 0,06 Å				
COOH-terminale $\alpha$ -Helix <sup>d</sup>	0,48 Å ± 0,11 Å	0,89 Å $\pm$ 0,12 Å				

Tab. 4.3 Zusammenfassung der Strukturberechnung von Pru av 1 wt mit der gaußförmigen Version des<br/>Datenbank-Potentials mit einem Grenzwert von mindestens 10,0 Standardabweichungen ge-<br/>folgt von einer Energieminimierung mit der korrigierten Standardparametrisierung der kova-<br/>lenten Geometrie. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die 22 akzeptierten Strukturen nach<br/>dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung.

a Aminosäuren 1 - 159

b Aminosäuren 2 - 58, 65 - 85, 97 - 104, 112 - 122, 130 - 153

c Aminosäuren 2 - 11, 41 - 58, 65 - 85, 97 - 104, 112 - 122

d Aminosäuren 130 - 153

Anschließend wurden zum Test alle 60 Strukturen von Pru av 1 wt aus der Strukturberechnung unter Verwendung des gaußförmigen Datenbank-Potentials ohne Grenzwert (Neudecker et al. 2001b; Abschnitt 4.3) 1000 Schritten Powell-Energieminimierung (Powell 1977) mit der Zielfunktion  $E_{pot}$  mit der korrigierten Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie unterzogen, von denen die gleichen 22 Strukturen die niedrigsten Werte der Zielfunktion  $E_{pot}$  zeigten wie vor der Energieminimierung (Neudecker et al. 2001b; Abschnitt 4.3) und daher als konvergierte Strukturen akzeptiert wurden, wenn auch teilweise in einer anderen Reihenfolge. Ein Vergleich der wichtigsten Strukturparameter dieser 22 Strukturen (Tab. 4.3) mit denen der 22 Strukturen vor der Energieminimierung (Tab. 4.2) machte deutlich, dass die Korrektur der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie vor allem die Abweichungen von der idealen kovalenten Geometrie und hier besonders von den idealen Bindungswinkeln beeinflusst, die Abweichungen von den vor allem in Form von Abstandsbeschränkungen vorliegenden experimentellen Randbedingungen hingegen kaum. Die beiden mittleren Strukturen vor und nach der Energieminimierung sind bei einer Standardabweichung der Atomkoordinaten von 0,11 Å für das Proteinrückgrat und von 0,15 Å für alle schweren Atome praktisch identisch.

# 4.5 Strukturelle Untersuchung von Mutanten von Pru av 1 und Api g 1.0101

# 4.5.1 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Mutanten von Pru av 1 und Api g 1.0101

Wie bereits die in Abb. 4.10 dargestellten CD-Spektren (Neudecker et al. 2003b) sind auch die in Abb. 4.11 dargestellten 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren von Pru av 1 wt, S112A, E45W und  $\Delta$ 155-159 so gut wie identisch, im Gegensatz zu Pru av 1 S112P. Das 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Api g 1.0101 ist in Abb. 4.12 dargestellt.



Abb. 4.10 CD-Spektren von Pru av 1 wt und seinen Mutanten (Neudecker et al. 2003b). Die Spektren sind fast identisch und konsistent mit ihrer gemischten  $\alpha/\beta$ -Sekundärstruktur (Abb. 1.2), mit Ausnahme von Pru av 1 S112P mit einem für ein im Wesentlichen unstrukturiertes Protein typischen Spektrum mit einem ausgeprägten Minimum nahe 200 nm.



4. Experimente und Ergebnisse

Abb. 4.11 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren von (von unten nach oben) Pru av 1 wt, S112A, E45W, Δ155-159 und S112P. Die Spektren sind fast identisch mit hervorragender Dispersion der chemischen Verschiebungen durch ihren hohen Anteil an β-Faltblattsträngen (Abb. 1.2), mit Ausnahme von Pru av 1 S112P mit einem für ein im Wesentlichen unstrukturiertes Protein typischen Spektrum mit geringer Dispersion der chemischen Verschiebungen und keinen hochfeldverschobenen Methylgruppenresonanzen. Die zusätzliche scharfe Resonanz bei 10,13 ppm von Pru av 1 E45W stammt vom Hɛ1-Atom von Trp 45 (siehe Abb. 4.13).



Abb. 4.12 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Api g 1.0101. Die hervorragende Dispersion der chemischen Verschiebungen weist auf einen hohen Anteil an β-Faltblattsträngen wie bei Bet v 1 und Pru av 1 wt (Abb. 1.2) hin. Die intensive scharfe Resonanz bei 3,71 ppm stammt von einer Tris-Verunreinigung.

## 4.5.2 Strukturbestimmung von Pru av 1 E45W

# 4.5.2.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen und Bestimmung der skalaren Kopplungskonstanten

Die beste spektrale Dispersion zeigen bei globulären Proteinen wie Pru av 1 E45W erfahrungsgemäß die Amidresonanzen des Proteinrückgrats, wie in Abb. 4.2 und Abb. 4.13 zu sehen; daher werden die Werte der chemischen Verschiebungen dieser Resonanzen zur Identifizierung der einzelnen Aminosäuren herangezogen. Die sequenzspezifische Zuordnung der Amidresonanzen des Proteinrückgrats von Pru av 1 E45W nach der Standardmethode (Wüthrich 1986, Kapitel 8) auf der Grundlage des HNHA, des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC, des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC und des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N/<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HMQC-NOESY-HSQC (Tab. 3.1) zeigte, dass nur die Resonanzen von Trp 45, Gly 46, Asp 47, Gly 48, Gly 51, Thr 52 und Ile 53 signifikant von den bei Pru av 1 wt beobachteten (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a) abwichen (Abb. 4.13).



Abb. 4.13 Überlagerung der <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektren von einfach markiertem Pru av 1 wt (positive Signale in rot, negative Signale in grün) und E45W (positive Signale in schwarz, negative Signale in blau). Die Resonanzen der Amidprotonen sind mit ihrer Position in der Aminosäuresequenz bezeichnet. Negative Signale sind in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 gefaltet. Signifikante Abweichungen sind durch rote Pfeile markiert.

Ausgehend von der Kenntnis der chemischen Verschiebungen der Amidresonanzen des Proteinrückgrats wurden anschließend die Resonanzen der aliphatischen Seitenketten dieser 7 Reste neu zugeordnet. Das HNHA-Experiment (Tab. 3.1) lieferte die chemischen Verschiebungen der Hα-Atome. Die Protonenresonanzen der Hβ-Atome ließen sich mit Hilfe des  $3D^{-1}H$ ,  $^{15}N$ -TOCSY-HSQC aus Tab. 3.1 bestimmen, ebenso die der Hγ1–Methylgruppe von Thr 52 und der Hγ2-Methylgruppe von Ile 53; wegen der kurzen transversalen Relaxationszeiten bei einem so großen System wie Pru av 1 E45W und der zur Reduzierung des Signalverlusts daher relativ kurz gewählten Mischzeit von 60 ms (Tab. 3.1) gelang es allerdings nicht, in diesem Experiment einen Kohärenztransfer vom Amidproton zur in der Seitenkette weit außen liegenden Hγ1-Methylengruppe und Hδ2-Methylgruppe von Ile 53 zu detektieren. Die Protonenresonanzen der nur langsam mit den Protonen des Lösungsmittels austauschenden Hγ1-Hydroxylgruppe von Thr 52 sowie der Hδ2-Methylgruppe von Ile 53 konnten anhand von NOE-Kreuzresonanzen aus dem 3D-<sup>1</sup>H,  $^{15}N$ -NOESY-HSQC eindeutig identifiziert werden. Da die skalare Kopplung zwischen den Hβ-Atomen einer aromatischen Aminosäure und den Wasserstoffatomen des Aromatenrings zu schwach ist, um im 3D-<sup>1</sup>H,  $^{15}N$ -TOCSY-HSQC beobachtet zu werden, mussten die <sup>1</sup>H- und  $^{15}N$ -Resonanzen der aromatischen Seitenkette von Trp 45 anhand von NOE-Kreuzresonanzen aus dem 3D-<sup>1</sup>H,  $^{15}N$ -NOESY-HSQC und dem  $^{15}N$ -gefilterten 2D-NOESY (Tab. 3.1) zugeordnet werden.

Auf der Grundlage des HNHA-Experiments konnten die  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ -Kopplungskonstanten von Asp 47, Thr 52 und Ile 53 von Pru av 1 E45W neu bestimmt werden (vgl. Abschnitt 3.1.5.2); bei Trp 45 scheiterte die Bestimmung der Intensität der Diagonalresonanz  $I_{d}$  an der spektralen Überlappung mit der Diagonalresonanz von Tyr 64 (siehe Abb. 4.13).

Die mit denen von Pru av 1 wt identischen chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- und <sup>15</sup>N-Kerne der nicht betroffenen 152 Reste ergänzt durch die bis auf die H $\gamma$ 1-Methylengruppe von Ile 53 vollständigen chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H- und <sup>15</sup>N-Kerne der neu zugeordneten 7 Reste von Pru av 1 E45W wurden zusammen mit den 93 mit denen von Pru av 1 wt identischen <sup>3</sup>J<sub>HN H  $\alpha}$ -Kopplungskonstanten der nicht betroffenen 152 Reste ergänzt durch die 3 bestimmten <sup>3</sup>J<sub>HN H  $\alpha}$ -Kopplungskonstanten der neu zugeordneten 7 Reste von Pru av 1 E45W in der BioMagResBank unter der Kennung 5490 hinterlegt (Neudecker et al. 2003b) und sind in Anhang 10.1.1 bzw. 10.2.1 abgedruckt.</sub></sub>

## 4.5.2.2 Experimentelle Strukturinformationen

Da die NMR-Spektren von Pru av 1 E45W bis auf 7 Reste in der P-Schleife so gut wie identisch mit denen von Pru av 1 wt waren (Abschnitt 4.5.2.1), musste die Struktur von

Pru av 1 E45W nur dort neu bestimmt werden. Zusätzlich zu den 2174 bei der Strukturberechnung von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b) verwendeten Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen, die keines der Wasserstoffatome von Glu 45, Gly 46, Asp 47, Gly 48, Gly 51, Thr 52 oder Ile 53 betrafen, konnten wie in Abschnitt 3.1.5.1 beschrieben aus dem 3D-1H,15N-NOESY-HSQC und dem <sup>15</sup>N-gefilterten 2D-NOESY (Tab. 3.1) weitere 147 Abstandsbeschränkungen gewonnen werden, die alle in Anhang 10.5.1.1 bis 10.5.1.3 abgedruckt sind. Da aus der skalaren Kopplungskonstante von Glu 45 wie in Abschnitt 3.1.5.2 beschrieben wegen ihres Wertes von  ${}^{3}J_{HNH\alpha}(E45) = 7,4 Hz$  (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000) keine Beschränkung der Diederwinkel für die Strukturberechnung von Pru av 1 wt abgeleitet worden war (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b) und aus den 3 neu bestimmten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ -Kopplungskonstanten von Asp 47, Thr 52 und Ile 53 (Abschnitt 4.5.2.1) wie in Abschnitt 3.1.5.2 beschrieben die gleichen Beschränkungen der Diederwinkel resultierten wie bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b), wurden für die Strukturberechnung von Pru av 1 E45W die gleichen in Anhang 10.5.1.4 abgedruckten 71 Beschränkungen der Diederwinkel verwendet wie für die Strukturberechnung von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b). Auch die in Anhang 10.5.1.5 abgedruckten 68 Abstandsbeschränkungen, die wie in Abschnitt 3.1.5.3 beschrieben aus den 34 bei Pru av 1 wt identifizierten Wasserstoffbrücken abgeleitet worden waren (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b), wurden für die Strukturberechnung von Pru av 1 E45W genutzt, da keine von ihnen eines der Atome von Glu 45, Gly 46, Asp 47, Gly 48, Gly 51, Thr 52 oder Ile 53 betraf. Diese 68 Abstandsbeschränkungen konnten wie schon bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b) in der endgültigen Strukturberechnung allesamt erfüllt werden, bei den 24 akzeptierten Strukturen von Abschnitt 4.5.2.3 tritt keine einzige Verletzung um mehr als 0,1 Å auf. In jeweils mindestens 22 dieser 24 Strukturen besitzen die  $N - H \cdots O$ -Winkel aller so identifizierter Wasserstoffbrücken einen Wert von mindestens 120°. Die einzige Ausnahme stellt wie schon bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000, Abschnitt 5.2.3) die Wasserstoffbrücke zwischen dem Amidproton von Ile 113 und der Carbonylgruppe von Val 105 dar, bei der dieser Wert um 120° schwankt.

## 4.5.2.3 Berechnete Strukturen

Die insgesamt 2458 experimentellen Randbedingungen aus Abschnitt 4.5.2.2 dienten als Grundlage für die Strukturbestimmung von Pru av 1 E45W. Mit der in Abschnitt 3.2.4 beschriebenen Simulated-Annealing-Strategie wurden dazu 60 Strukturen berechnet. Während der Rechnung selbst kam dabei auch die gaußförmige Version des Datenbank-Terms  $E_{db}$  mit einem Grenzwert von 10,0 Standardabweichungen zum Einsatz, bei der Analyse der Strukturen wurde die Zielfunktion  $E_{pot}$  jedoch immer ohne diesen Term berechnet, um so die Vergleichbarkeit mit der Zielfunktion von ohne Datenbank-Term berechneten Strukturen zu gewährleisten. Aus Gründen der Vergleichbarkeit mit Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b; Abschnitt 4.3) wurde außerdem auf die Verwendung der korrigierten Standardparameter der kovalenten Geometrie (Abschnitt 4.4) verzichtet. Von den 60 berechneten Strukturen wurden die 24 Strukturen mit den niedrigsten Werten der Zielfunktion  $E_{pot}$  als konvergierte Strukturen akzeptiert. Bei diesen 24 Strukturen beobachtet man keine einzige Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,3 Å sowie keine systematische Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,15 Å. Die Atomkoordinaten der 24 akzeptierten Strukturen wurden unter der Kennung 1H2O in der Protein Data Bank hinterlegt, einschließlich der verwendeten experimentellen Randbedingungen unter der Kennung R1H2OMR (Neudecker et al. 2003b).

Tab. 4.4 enthält eine Zusammenfassung der wichtigsten Strukturparameter von Pru av 1 E45W, die denen von Pru av 1 wt (Tab. 4.2) erwartungsgemäß sehr ähnlich sind. Die mittlere Verletzung der experimentellen Randbedingungen sowie die Abweichung von der idealen Geometrie ist klein. Die geringe Streuung der atomaren Koordinaten der 22 Strukturen um die der mittleren Struktur von 0,60 Å für das Proteinrückgrat und 0,91 Å für alle schweren Atome zeigt, dass es sich bei Pru av 1 E45W wie schon bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b) um eine gut definierte Struktur handelt; dies ist auch aus der in Abb. 4.14 dargestellten Überlagerung der Proteinrückgrate klar ersichtlich. Eine Analyse der durch die Torsionswinkel  $\Phi$  und  $\Psi$  charakterisierten Proteinrückgrat-Konformationen mit PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996) ergibt, dass 82,6 % aller Aminosäuren der 24 akzeptierten Strukturen sterisch besonders bevorzugte Konformationen annehmen und insgesamt 98,4 % sterisch günstige. Zum Vergleich: Solche Werte sind typisch für bei einer Auflösung von 2,1 Å bestimmte Kristallstrukturen. Aus sterischen Gründen verbotene Konformationen werden nur bei 0,1 % aller Aminosäuren der 24 akzeptierten Strukturen beobachtet. Nicht berücksichtigt sind bei der Berechnung dieser Werte jeweils die sehr flexiblen Glycine sowie die starren Proline.

Für die Strukturberechnung verwendet	e experimentelle Randbeding	ungen
Intraresiduale NOEs		661
Interresiduale NOEs	sequentiell	733
	mittelreichweitig	332
	langreichweitig	593
Beschränkungen der Diederwinkel		71
Wasserstoffbrücken		34
Statistik der Moleküld	ynamik-Simulation	
Energien / kcal/mol	E pot	$242\pm 6$
	E bonds	$7,4 \pm 0,4$
	E angles	$178,5 \pm 2,0$
	E impropers	$21,\!6\pm0,\!6$
	$E_{VdW}$	$14,0 \pm 1,3$
	E <sub>NOE</sub>	$21 \pm 3$
	$E_{cdih}$	$0,06 \pm 0,03$
Standardabweichungen von den idealen Abständen / Å	Bindungslängen	$0,00171 \pm 0,0000$
	Abstandsbeschränkungen	$0,\!0132\pm0,\!0009$
Standardabweichungen von den idealen Winkeln / $^\circ$	Bindungswinkel	$0{,}507 \pm 0{,}003$
	Diederwinkel	$0,\!431 \pm 0,\!004$
	Diederwinkelbeschränkungen	$0,\!035\pm0,\!010$
Atomare Standardabweichunger	n von der mittleren Struktur	
	Proteinrückgrat	Schwere Atome
Gesamte Struktur <sup>a</sup>	0,60 Å $\pm$ 0,10 Å	0,91 Å $\pm$ 0,12 Å
Reguläre Sekundärstruktur <sup>b</sup>	0,43 Å $\pm$ 0,07 Å	0,70 Å $\pm$ 0,08 Å
β-Faltblätter <sup>c</sup>	0,27 Å $\pm$ 0,04 Å	0,56 Å $\pm$ 0,07 Å
COOH-terminale $\alpha$ -Helix <sup>d</sup>	0,44 Å $\pm$ 0,10 Å	0,82 Å $\pm$ 0,14 Å
Atomare Standardabweichungen von de	r mittleren Struktur von Pru	av 1 wt <sup>e</sup>
	Proteinrückgrat	Schwere Atome
Gesamte Struktur <sup>a</sup>	$0,73 \text{ \AA} \pm 0,12 \text{ \AA}$	1,07 Å $\pm$ 0,13 Å
P-Schleife <sup>f</sup>	$0,70 \text{ \AA} \pm 0,18 \text{ \AA}$	0,93 Å $\pm$ 0,13 Å

b. 4.4 Zusammenfassung der Strukturberechnung von Pru av 1 E45W. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die 24 akzeptierten Strukturen nach dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung, abgesehen von den verwendeten experimentellen Randbedingungen. a Aminosäuren 1 - 159

b Aminosäuren 2 - 58, 65 - 85, 97 - 104, 112 - 122, 130 - 153

c Aminosäuren 2 - 11, 41 - 58, 65 - 85, 97 - 104, 112 - 122

d Aminosäuren 130 - 153

e Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09

f Aminosäuren 45 (Seitenkette nur bis einschließlich C $\beta$ ), 46, 47, 48, 51, 52, 53

## 4. Experimente und Ergebnisse



Abb. 4.14 Überlagerung der 24 akzeptierten Strukturen von Pru av 1 E45W mit den 22 akzeptierten Strukturen von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 1.6 und Abb. 4.5 bis Abb. 4.9. Dargestellt ist jeweils das Proteinrückgrat sowie die schweren Atome der Seitenkette von Trp 45 bzw. Glu 45, die Seitenkette von Ser 112 wird von der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  verdeckt. Die C-Atome sind grau farbcodiert, die N-Atome blau; die O-Atome der Carboxylgruppe von Glu 45 sind rot eingefärbt. Der NH<sub>2</sub>-Terminus im linken Teil ist verdeckt, der COOH-Terminus befindet sich ganz rechts. Mit Ausnahme der mit einem Pfeil markierten im Vordergrund sichtbaren Schleife von Glu 60 bis Gln 63, die eine erhöhte Flexibilität des Proteinrückgrats aufweist (Abschnitt 4.1), stimmen die insgesamt 46 Strukturen hervorragend miteinander überein, insbesondere was die  $\beta$ -Faltblattstränge anbetrifft (vgl. Tab. 4.4).

Die mittleren atomaren Standardabweichungen des Proteinrückgrats von der mittleren Struktur von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) von 0,73 Å für die gesamte Struktur und 0,70 Å nur für die P-Schleife (Tab. 4.4) sind ähnlich den mittleren atomaren Standardabweichungen des Proteinrückgrats von der mittleren Struktur von Pru av 1 E45W selbst, und dementsprechend werden die beiden Strukturfamilien in einer Überlagerung als ein Satz von Strukturen wahrgenommen und nicht als zwei verschiedene Sätze von Strukturen (Abb. 4.14), sogar im Bereich der P-Schleife. Die Konformation des Proteinrückgrats von Pru av 1 wird also durch die Mutation E45W ganz offensichtlich nicht gestört. Dies gilt auch für die Seitenketten mit mittleren atomaren Standardabweichungen aller schweren Atome von der mittleren Struktur von Pru av 1 wt von 1,07 Å für die gesamte Struktur und 0,93 Å nur für die P-Schleife (Tab. 4.4), sogar die Seitenkettenposition von Glu 45 und Trp 45 ist ähnlich (Abb. 4.14). Bei ersten Teststrukturen trat als Folge einer aus der schwach detektierbaren NOE-Kreuzresonanz zwischen dem HE1-Atom von Trp 45 und dem NH-Atom von Gly 46 abgeleiteten Abstandsbeschränkung vereinzelt auch eine Seitenkettenkonformation von Trp 45 auf, bei der der Indoldoppelring parallel auf der Moleküloberfläche lag, was allerdings nicht mit der aus einer NOE-Kreuzresonanz zwischen He3-Atom Trp 45 und dem Hα-Atom Thr 52 dem von von abgeleiteten Abstandsbeschränkung vereinbar war. Zwar lässt sich nicht vollständig ausschließen, dass die NOE-Kreuzresonanz zwischen dem Hɛ1-Atom von Trp 45 und dem NH-Atom von Gly 46 darauf zurückzuführen ist, dass auch diese Konformation teilweise populiert ist. Da zumindest im Rahmen des gegebenen Signal-Rausch-Verhältnisses der NMR-Spektren kein zweiter Satz an Resonanzen beobachtet wurde, müsste der Austausch mit der in Abb. 4.14 dargestellten Konformation dann gegenüber der Millisekundenzeitskala der chemischen Verschiebungen notwendigerweise schnell stattfinden. Eine Analyse mit SHIFTS 4.1 (Wishart und Case 2001) zeigte jedoch, dass die in Abb. 4.14 dargestellte Konformation nicht nur besser mit den Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen verträglich ist, sondern vor allem auch mit den beobachteten chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne, da bei der Konformation mit dem parallel auf der Moleküloberfläche liegenden Indoldoppelring durch Ringstromeffekte (Wüthrich 1986, Abschnitt 3.1) beispielsweise für die sich dann unmittelbar unter dem Indoldoppelring befindlichen Ha-Atome von Gly 46 und Thr 52 stark hochfeldverschobene Resonanzen zu erwarten gewesen wären. Daher wurde die NOE-Kreuzresonanz zwischen dem HE1-Atom von Trp 45 und dem NH-Atom von Gly 46 letztendlich auf Spindiffusion (Hull und Sykes 1975) zurückgeführt und nicht in eine Abstandsbeschränkung umgesetzt. Auf eine weitergehende detaillierte Analyse der Struktur von Pru av 1 E45W sei hier wegen der starken Ähnlichkeit zu Pru av 1 wt verzichtet und auf die Analyse der Struktur von Pru av 1 wt verwiesen (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a; Neudecker et al. 2001b).

## 4.6 Strukturbestimmung von Gly m 4

# 4.6.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen und Bestimmung der skalaren Kopplungskonstanten

Die Amidresonanzen des Proteinrückgrats von Gly m 4 (Abb. 4.15) zeigen eine ähnlich gute spektrale Dispersion wie die von Pru av 1 wt (Abb. 4.2) und Pru av 1 E45W (Abb. 4.13).



Abb. 4.15 <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum von doppelt markiertem Gly m 4 (Probe D, siehe Abschnitt 3.1.1). Die mit ihrer Position in der Aminosäuresequenz bezeichneten Resonanzen der Amidprotonen zeigen eine gute Dispersion.

Im Rahmen der von Hand durchgeführten sequenzspezifische Zuordnung der Amidresonanzen des Proteinrückgrats von Gly m 4 auf der Grundlage der Tripelresonanzexperimente HNCO, HNCA, HNCACB, HBHA(CBCACO)NH, CBCA(CO)NH, H(CCO)NH und C(CO)NH unterstützt durch die <sup>15</sup>N-editierten Experimente HNHA, 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC, 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC und 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N/<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HMQC-NOESY-HSQC (Tab. 3.1) konnten alle 148 Amidresonanzen des Proteinrückgrats identifiziert werden (Abb. 4.15) sowie die Resonanzen aller H $\alpha$ -, C $\alpha$ -, H $\beta$ - und C $\beta$ -Atome und aller 148 durch die Peptidbindung kovalent mit einer Amidgruppe verbundenen CO-Atome.

Ausgehend von der Kenntnis der chemischen Verschiebungen der Amidresonanzen des Proteinrückgrats wurden anschließend mit Hilfe des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC, des H(CCO)NH, des C(CO)NH, des H(C)CH-COSY, des (H)CCH-COSY und des HC(C)H-TOCSY die Resonanzen der aliphatischen Seitenketten soweit wie möglich vervollständigt. Die spektrale Dispersion der Alpharesonanzen (Abb. 4.16) und der Methylgruppenresonanzen (Abb. 4.17) im <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC von Tab. 3.1 ist ähnlich gut wie die der Amidresonanzen (Abb. 4.15).

Da die skalare Kopplung zwischen den Hβ-Atomen einer aromatischen Aminosäure und den Wasserstoffatomen des Aromatenrings zu schwach ist, um im 2D-TOCSY oder im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC beobachtet zu werden, mussten zur sequenzspezifischen Zuordnung der Protonenresonanzen der Aromatenringe NOESY-Experimente herangezogen werden, vor allem das 2D-NOESY in D<sub>2</sub>O, das 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC und das 3D-<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-NOESY-HSQC (Tab. 3.1). Das 2D-TOCSY in D<sub>2</sub>O wurde dazu verwendet, die skalare Kopplung zwischen den verschiedenen Wasserstoffatomen eines Aromatenrings zu beobachten. Auch die Zuordnung der Resonanzen der Histidinringe, der Seitenkettenamide der Asparagin- und Glutamin-Reste (siehe Abb. 4.15) sowie der langsam austauschenden Hydroxylprotonen bei Threoninund Serin-Resten erfolgte auf der Grundlage der NOESY-Experimente.

Auf der Grundlage des HNHA-Experiments konnten 89  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ -Kopplungskonstanten von Gly m 4 bestimmt werden (vgl. Abschnitt 3.1.5.2); bei den übrigen 45 der 134 Aminosäuren, die weder ein Prolin noch ein Glycin darstellen, scheiterte meist die Bestimmung der Intensität der Diagonalresonanz  $I_{d}$  an der spektralen Überlappung.


Abb. 4.16 Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC von Gly m 4, in dem sich die Alpharesonanzen befinden. Die Zahl in der Beschriftung gibt die Sequenzposition der jeweiligen Aminosäure an. Nicht zu sehen sind die Alpharesonanzen der Glycine, die in einem anderen Bereich des Spektrums liegen. Die Dispersion der Signale ist gut. Besonders auffällig die stark hochfeldverschobene Resonanz des Hα-Atoms von Leu 78 bei 2,75 *ppm*, die bereits beim äquivalenten Rest Tyr 79 von Bet v 1 (Schweimer et al. 1999) und Pru av 1 (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000) beobachtet worden war. Die Vielzahl der tieffeldverschobenen Hα-Resonanzen links von der Wasserlinie bei etwa 4,7 *ppm* lässt einen hohen Anteil von β-Faltblattsträngen an der Sekundärstruktur von Gly m 4 erwarten (vgl. Abschnitt 3.1.5.9).



Abb. 4.17 Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC von Gly m 4, in dem sich die Methylgruppenresonanzen befinden. Die Zahl in der Beschriftung gibt die Sequenzposition der jeweiligen Aminosäure an. Auch die Methylgruppen zeigen eine gute spektrale Dispersion. Die stark hochfeldverschobene Resonanz der Protonen einer der beiden Methylgruppen von Val 23 bei - 0,30 ppm, die den kleinsten Werte aller <sup>1</sup>H-Resonanzen von Gly m 4 darstellt, wurde bereits bei Bet v 1 (Schweimer et al. 1999) und Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000) beobachtet.

Insgesamt konnten 1677 der 1877 zu erwartenden chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>Cund <sup>15</sup>N-Kerne von Gly m 4 eindeutig zugeordnet werden (89,3 %), insbesondere 890 der 943 zu erwartenden <sup>1</sup>H-Resonanzen (94,4 %) (Neudecker et al. 2003a). Sie wurden zusammen mit den 89  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ -Kopplungskonstanten in der BioMagResBank unter der Kennung 5605 hinterlegt und sind in Anhang 10.1.2 bzw. 10.2.2 abgedruckt.

#### 4.6.2 Experimentelle Strukturinformationen

#### 4.6.2.1 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten

Von den 89 bestimmten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ -Kopplungskonstanten von Gly m 4 (Abschnitt 4.6.1) haben 22 einen Wert kleiner als 6,0 *Hz* und 42 einen Wert größer als 8,0 *Hz*; daraus ergaben sich die in Anhang 10.5.2.1 abgedruckten 64 Beschränkungen der Diederwinkel (vgl. Abschnitt 3.1.5.2).

## 4.6.2.2 Dipolare Kopplungskonstanten

Auf der Grundlage der <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-IPAP-Spektren konnten wie in Abschnitt 3.1.5.4.2 beschrieben die in Anhang 10.3.1 abgedruckten 118 dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  von durch Zugabe von 18  $\frac{mg}{ml}$  filamentösen Pf1-Bakteriophagen (Hansen et al. 1998) schwach ausgerichtetem Gly m 4 bestimmt werden; daraus ergaben sich die in Anhang 10.5.2.2 abgedruckten experimentellen Randbedingungen (vgl. Abschnitt 3.2.3.3). Der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  von Gly m 4 in diesem Medium ist mit einer aus den Extremwerten dieser 118 dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  geschätzten (Clore et al. 1998) Rhombizität von nur R = 0,05 (Abschnitt 3.1.5.4.2) fast axialsymmetrisch.

## 4.6.2.3 Chemische Verschiebungen der <sup>13</sup>Cα- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne

Wie in Abschnitt 3.2.3.4 beschrieben konnte für alle 141 Reste mit Ausnahme des NH<sub>2</sub>- und des COOH-terminalen Rests sowie der Glycine jeweils eine experimentelle Randbedingung eingeführt werden, die in Anhang 10.5.2.3 abgedruckt sind.

#### 4.6.2.4 Analyse der Sekundärstruktur auf der Grundlage der experimentellen Daten

Alle diese experimentellen Daten ermöglichten auch ohne explizite Berechnung der Struktur bereits eine recht zuverlässige Identifizierung der Sekundärstrukturelemente von Gly m 4. Das Ergebnis der in Abschnitt 3.1.5.9 beschriebenen Sekundärstrukturanalyse nach Wishart für Gly m 4 ist in Abb. 4.18 dargestellt:



Abb. 4.18 Chemische Verschiebungsindizes der 157 Aminosäurebausteine von Gly m 4. Die oberen drei Abbildungen zeigen die chemischen Verschiebungsindizes der Hα-, Cα- bzw. CO-Atome, die untere den daraus bestimmten Konsensus-Index. Die drei einzelnen Indizes stimmen gut miteinander überein, so dass man in vielen Fällen einen von 0 verschiedenen Konsensus-Index erhält. Aus dem Konsensus-Index ergeben sich nach den in Abschnitt 3.1.5.9 angegebenen Regeln zwei α-Helices an den Sequenzpositionen 14 - 31 und 129 - 153 sowie sechs β- Faltblattstränge an den Sequenzpositionen 2 - 11, 52 - 59, 62 - 69, 80 - 85, 94 - 104 und 112 - 121.

Ein Vergleich mit den am Homologiemodell von Gly m 4 identifizierten Sekundärstrukturelementen (siehe Abschnitt 4.6.3) zeigt, dass alle drei  $\alpha$ -Helices (wenn auch zwei davon nicht als getrennt) sowie sechs der sieben  $\beta$ -Faltblattstränge bereits erkannt werden, und bei dem wegen seiner Kürze nicht erkannten siebten  $\beta$ -Faltblattstrang von Val 40 bis Asn 42 ist zumindest die richtige Tendenz erkennbar.

Neben den Werten für die chemischen Verschiebungen sind auch in der Größe der skalaren Kopplungskonstante  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  weitere Informationen über die Sekundärstruktur des Proteins enthalten (vgl. Abschnitt 3.1.5.2). Diese Informationen sind in Abb. 4.19 zusammengefasst:



Abb. 4.19 Schematische Darstellung der sekundärstrukturtypischen experimentellen Daten von Gly m 4. In der obersten Zeile ist jeweils die Sequenzposition angegeben, darunter der zugehörige Aminosäuretyp im Ein-Buchstaben-Code. Ein weißes Quadrat in der mit J $\alpha$ N bezeichneten Bahn bedeutet eine skalare Kopplungskonstante <sup>3</sup>  $J_{HNH\alpha}$ , wie sie in  $\alpha$ -Helices bevorzugt auftritt; durch ein schwarzes Quadrat symbolisierte Kopplungskonstanten sind charakteristisch für  $\beta$ -Faltblattstränge. Die nächste Zeile enthält jeweils den Konsensus-Index CSI der chemischen Verschiebungen aus Abb. 4.18. Zum Vergleich ist ganz unten die Sekundärstruktur von Gly m 4 aufgetragen, wie sie sich aus dem Strukturmodell ergibt (siehe Abschnitt 4.6.3); sie passt hervorragend zu den NMR-spektroskopischen Daten in dieser Abbildung.

Die näherungsweise Axialsymmetrie des Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  (Abschnitt 4.6.2.2) erleichtert die Interpretation der gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  von Gly m 4 (Anhang 10.3.1) erheblich, da die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  nach (3.13) kaum noch vom Azimutwinkel  $\phi$  des jeweiligen N-NH-Bindungsvektors im Hauptachsensystem des Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  abhängen, sondern im Wesentlichen durch den Polarwinkel  $\theta$  des N-NH-Bindungsvektors relativ zur näherungsweisen Symmetrieachse des Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  bestimmt sind, so dass auch eine Betrachtung der gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  von Gly m 4 (Anhang 10.3.1) bei der Identifizierung der Sekundärstrukturelemente hilfreich ist. Da die N-NH-Bindungsvektoren benachbarter Reste entlang einer  $\alpha$ -Helix bzw. eines  $\beta$ -Faltblattstrangs näherungsweise parallel bzw. antiparallel zueinander stehen (Branden und Tooze 1998, Kapitel 2; Fersht 1998, Abschnitt 1.C.1.b), haben alle Reste einer  $\alpha$ -Helix bzw. eines  $\beta$ -Faltblattstrangs meist ähnliche dipolare

Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$ , allerdings kann die geringe Abweichung von der Parallelität bzw. Antiparallelität zu einer gewissen Modulation der dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  mit einer Periode von 3,6 bzw. 2 Resten führen. Selbst die typische rechtshändige Verdrillung der β-Faltblattstränge (Branden und Tooze 1998, Kapitel 2; Fersht 1998, Abschnitt 1.C.4.b) spiegelt sich manchmal in den Werten der dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$ entlang des β-Faltblattstrangs wider. Besonders deutlich erkennt man all diese Charakteristika bei den dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  des Faltblattstrangs  $\beta_7$  zwischen Ser 111 und Thr 121 sowie der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  zwischen Gln 129 und Ala 152 (Anhang 10.3.1). Die Achse der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  liegt zudem in etwa parallel zur näherungsweisen Symmetrieachse des Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  (Polarwinkel  $\theta \approx 0$ ), da dort mehrere dipolare Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  von annähernd  $2 D_a = 17,94 Hz$ gemessen werden (siehe Abschnitt 3.1.5.4.2). Die näherungsweise Kollinearität der Achse der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  mit der Symmetrieachse des offensichtlich ebenfalls näherungsweise axialsymmetrischen Trägheitstensors im Strukturmodell von Gly m 4 (Abb. 4.21) ist zwar suggestiv, allerdings dürfte die negative Ladung der Pf1-Bakteriophagen zusätzlich zur sterischen Wechselwirkung (Zweckstetter und Bax 2000) auch zu einer elektrostatischen Wechselwirkung (Hansen et al. 1998; Zweckstetter und Bax 2001) mit den bei pH = 7.0 ebenfalls negativ geladenen Gly m 4 Molekülen führen, so dass die räumliche Verteilung der geladenen Reste von Glym4 und vielleicht auch das elektrische Nettodipolmoment (Branden und Tooze 1998, Kapitel 2; Fersht 1998, Abschnitt 1.C.1.b) der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  nicht außer Acht gelassen werden sollte.

## 4.6.3 Modellierung der Struktur von Gly m 4

Das wie in Abschnitt 3.2.5 beschrieben auf Basis der Strukturen von Pru av 1 wt und Bet v 1 erstellte Homologiemodell von Gly m 4 erfüllt die 118 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  (Abschnitt 4.6.2.2) nach Ansetzen von Wasserstoffatomen und 100 Schritten Energieminimierung in Sybyl 6.5 mit einer Streuung von 3,99 Hz um die berechneten Werte entsprechend einem Qualitätsfaktor (Abschnitt 3.1.5.4.1) von Q = 49,5% (Abb. 4.20). Auffällig ist allerdings, dass bei dem zu Grunde liegenden linearen Least-Squares-Fit (Abschnitt 3.1.5.4.1) die Anisotropie  $D_a = 6,55$  Hz des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  gegenüber dem wahren Wert von  $D_a = 9,0$  Hz (Abschnitt 3.1.5.4.2) um einen Faktor 0,73 unterschätzt wird.



Abb. 4.20 Gemessene dipolare Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  in Abhängigkeit vom Polarwinkel  $\theta$  im Hauptachsensystem des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  (oben) und von der nach (3.13) berechneten dipolaren Kopplungskonstante  $D_{calc}$  (Mitte) sowie Differenzen zwischen gemessenen und berechneten dipolaren Kopplungskonstanten für die einzelnen Aminosäuren (unten) des Homologiemodells von Gly m 4. Der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  wurde wie in Abschnitt 3.1.5.4.1 beschrieben durch einen linearen Least-Squares-Fit seiner 5 Komponenten in der irreduziblen sphärischen Darstellung bestimmt, woraus sich  $D_a = 6,55 Hz$  und R = 0,20 ergibt. Die durchgezogene Linie im oberen Teil stellt den berechneten Wert  $D_a((3\cos^2\theta - 1) - \frac{3}{2}R\sin^2\theta)$  dar, den man aus (3.13) für den Fall  $\phi = 90^\circ$  erhält.

Dieses Homologiemodell von Gly m 4 wurde anschließend wie in Abschnitt 3.2.5 beschrieben mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen (Abschnitt 4.6.2) energieminimiert. Tab. 4.5 enthält eine Zusammenfassung der wichtigsten Strukturparameter.

Für die Energieminimierung verwendete experimentelle Randbedingungen				
Beschränkungen der Diederwinkel		64		
Dipolare Kopplungskonstanten		118		
Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne	jeweils	141		
Statistik der Energiemi	inimierung			
Energien / kcal/mol	E pot	48,7		
	$E_{bonds}$	2,1		
	E angles	21,3		
	E impropers	7,0		
	$E_{VdW}$	4,6		
	$E_{cdih}$	0,072		
	$E_{rdc}$	13,6		
Standardabweichungen von den idealen Abständen / Å	Bindungslängen	0,00094		
Standardabweichungen von den idealen Winkeln / $^{\circ}$	Bindungswinkel	0,181		
	Diederwinkel	0,335		
	Diederwinkelbeschränkungen	0,043		
Standardabweichungen von den idealen dipolaren Kopplungskonstanten / Hz		0,339		
Standardabweichungen von den idealen chemischen	<sup>13</sup> Cα	1,416		
Verschiebungen / ppm	<sup>13</sup> Cβ	1,218		

Tab. 4.5 Zusammenfassung der Energieminimierung des Homologiemodells von Gly m 4.

Die mittlere Verletzung der experimentellen Randbedingungen sowie die Abweichung von der idealen Geometrie ist klein. Die mit Hilfe von PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996) identifizierten regulären Sekundärstrukturelemente von Gly m 4 sind in Abb. 4.21 schematisch dargestellt. Eine Analyse der durch die Torsionswinkel  $\Phi$  und  $\Psi$  charakterisierten Proteinrückgrat-Konformationen mit PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996) ergibt, dass durch die Energieminimierung der Anteil der Aminosäuren des Homologiemodells von Gly m 4, die sterisch besonders bevorzugte Konformationen annehmen, von 79,7 % leicht auf 74,4 % sinkt, wobei allerdings der Anteil der Aminosäuren, die sterisch günstige Konformationen annehmen, mit jeweils 97,0 % gleich bleibt (Abb. 4.22). Zum Vergleich: Solche Werte sind typisch für bei einer Auflösung von 2,3 Å bzw. 2,6 Å bestimmte Kristallstrukturen. Der Anteil von 1,5 % der Aminosäuren, die eine aus sterischen Gründen verbotene Konformation annehmen, wird durch die Energieminimie-

rung vollständig beseitigt. Nicht berücksichtigt sind bei der Berechnung dieser Werte jeweils die sehr flexiblen Glycine sowie die starren Proline.



Abb. 4.21 Schematische Darstellung der regulären Sekundärstrukturelemente anhand des Homologiemodells von Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen. Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 1.6, Abb. 4.5 bis Abb. 4.9 und Abb. 4.14. Die sieben β-Faltblattstränge bilden ein antiparalleles β-Faltblatt, das zusammen mit den beiden V-förmig angeordneten kurzen Helices α<sub>1</sub> (Reste 15-22) und α<sub>2</sub> (Reste 26-32) um die lange COOH-terminale Helix α<sub>3</sub> (Reste 129-152) gewickelt ist. Dadurch entsteht im Inneren ein Hohlraum. Die gegenseitige Orientierung der β-Faltblattstränge ist gegeben durch die Sequenzpositionen 2→11 (β<sub>1</sub>), 111 ← 121 (β<sub>7</sub>), 96 → 104 (β<sub>6</sub>), 79 ← 84 (β<sub>5</sub>), 64 → 74 (β<sub>4</sub>), 52 ← 57 (β<sub>3</sub>) und 40 → 42 (β<sub>2</sub>). Trotz teilweiser Verdeckung durch den Strang β<sub>3</sub> ist der Knick in Strang β<sub>4</sub> deutlich zu erkennen, der sich etwa in einer mittleren bis starken NOE-Kreuzresonanz (Abschnitt 3.1.5.1) zwischen den Amidprotonen von Glu 71 und Ser 72 im <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC (Tab. 3.1) niederschlägt.



Abb. 4.22 Ramachandran-Plot des Homologiemodells von Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen. Glycine werden durch ein schwarzes Dreieck symbolisiert, alle anderen Reste durch ein schwarzes Quadrat. Die in Strukturdatenbanken besonders häufig anzutreffenden Proteinrückgrat-Konformationen A, B und L sind rot eingefärbt; die Region A ist dabei typisch für α-Helices und die Region B für β-Faltblattstränge. Etwas seltenere Konformationen sind gelb eingefärbt, sehr seltene blassgelb. Alle anderen Konformationen sind sterisch extrem ungünstig und werden daher fast nie beobachtet. Außer Val 23, Ser 36, Ser 39 und Asp 124 nehmen alle Aminosäuren dieses Homologiemodells eine sterisch günstige Konformation an, wobei die sehr flexiblen Glycin-Residuen nicht bewertet wurden.

Nach der Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen erfüllt das Homologiemodell von Gly m 4 die 118 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  (Abschnitt 4.6.2.2) mit einer Streuung von 0,33 Hz um die berechneten Werte entsprechend einem Qualitätsfaktor (Abschnitt 3.1.5.4.1) von Q=4,1%(Abb. 4.23). Die bei dem zu Grunde liegenden linearen Least-Squares-Fit (Abschnitt 3.1.5.4.1) bestimmte Anisotropie  $D_a=9,05$  Hz und Rhombizität R=0,04 des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  stimmt jetzt gut mit den wahren Werten von  $D_a=9,0$  Hz und R=0,05(Abschnitt 3.1.5.4.2) überein.



Abb. 4.23 Gemessene dipolare Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  in Abhängigkeit vom Polarwinkel  $\theta$  im Hauptachsensystem des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  (oben) und von der nach (3.13) berechneten dipolaren Kopplungskonstante D<sub>calc</sub> (Mitte) sowie Differenzen zwischen gemessenen und berechneten dipolaren Kopplungskonstanten für die einzelnen Aminosäuren (unten) des Homologiemodells von Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen. Der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  wurde wie in Abschnitt 3.1.5.4.1 beschrieben durch einen linearen Least-Squares-Fit seiner 5 Komponenten in der irreduziblen sphärischen Darstellung bestimmt, woraus sich  $D_a = 9,05 Hz$  und R = 0,04 ergibt. Die durchgezogene Linie im oberen Teil stellt den berechneten Wert  $D_a((3\cos^2\theta - 1) - \frac{3}{2}R\sin^2\theta)$  dar, den man aus (3.13) für den Fall  $\phi = 90^\circ$  erhält.

# 4.6.4 Vergleich des Homologiemodells von Gly m 4 mit bekannten Strukturen von Bet v 1, Pru av 1 wt sowie LlPR10.1A und LlPR10.1B

Ein Vergleich des Homologiemodells von Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen mit den meisten experimentell bestimmten Strukturen von Isoformen oder Mutanten von Bet v 1 sowie mit allen experimentell bestimmten Strukturen von PR-10-Proteinen ist in Tab. 4.6 dargestellt. Da das Homologiemodell auf der Grundlage der NMR-Struktur von Pru av 1 wt zusammen mit drei experimentell bestimmten Strukturen von Isoformen und Mutanten von Bet v 1 erstellt wurde, ist die Standardabweichung von Pru av 1 wt mit 1,07 Å und von Bet v 1.2801 mit 1,51 Å am niedrigsten, und zwar in dieser Reihenfolge. Diese Selbstkonsistenzprüfung unterstreicht die Zuverlässigkeit des Homologiemodells von Gly m 4 und seine gute Übereinstimmung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen.

	Pru av 1 wt <sup>a</sup>	Bet v 1.2801 <sup>b</sup>	Bet v 1.1001°	Bet v 1.0101 M139L <sup>d</sup>	LlPR10.1A <sup>e</sup>	LlPR10.1B A <sup>f</sup>	LlPR10.1B B <sup>g</sup>
Gly m 4	1,07 Å	1,51 Å	1,66 Å	2,10 Å	2,10 Å	1,73 Å	1,68 Å
Pru av 1 wt <sup>a</sup>		1,85 Å	1,83 Å	2,23 Å	2,09 Å	1,83 Å	1,90 Å
Bet v 1.2801 <sup>b</sup>			0,97 Å	2,06 Å	2,74 Å	2,12 Å	2,02 Å
Bet v 1.1001°				1,94 Å	2,90 Å	2,34 Å	2,28 Å
Bet v 1.0101 M139L <sup>d</sup>					3,20 Å	2,72 Å	2,67 Å
LlPR10.1A <sup>e</sup>						1,40 Å	1,59 Å
LIPR10.1B A <sup>f</sup>							0,62 Å

- Tab. 4.6 Standardabweichungen der Atomkoordinaten der Proteinrückgrate des Homologiemodells von<br/>Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen<br/>Randbedingungen, der NMR-Struktur von Pru av 1 wt, der Kristallstrukturen von Bet v 1.2801<br/>und Bet v 1.1001, der NMR-Struktur von Bet v 1.0101 M139L und der Kristallstrukturen von<br/>LIPR10.1A und LIPR10.1B. Den Standardabweichungen wurden auf der Grundlage des Sequenz-<br/>alignments aus Abb. 1.4 berechnet.
  - a Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09; mittlere Struktur
  - b Gajhede et al. 1996, PDB-Kennung 1BV1
  - c Markovic-Housley et al. 2003, PDB-Kennung 1FM4
  - d Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000, PDB-Kennung 1B6F; bei den Vergleichen mit dieser Struktur sind jeweils nur die Aminosäuren 1 154 berücksichtigt, weil der COOH-Terminus experimentell stark unterdefiniert ist
  - e Biesiadka et al. 2002, PDB-Kennung 1ICX
  - f Biesiadka et al. 2002, PDB-Kennung 1IFV; Monomer A in der asymmetrischen Einheit
  - g Biesiadka et al. 2002, PDB-Kennung 1IFV; Monomer B in der asymmetrischen Einheit

Besonders deutlich sieht man dies in der Überlagerung der Proteinrückgrate (Abb. 4.24), wo das Proteinrückgrat des Homologiemodells von Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen fast überall zwischen denen der mittleren Struktur von Pru av 1 wt und der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 liegt. Unterschiede findet man erwartungsgemäß vor allem im Bereich von Lücken im Sequenzalignment (Abb. 1.4).



Abb. 4.24 Überlagerung des Proteinrückgrats des Homologiemodells von Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen (rot) mit dem der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 (orange), der mittleren Struktur von Pru av 1 wt (grün), der Kristallstruktur von LlPR10.1A (zyan) und des Monomers A in der asymmetrischen Einheit der Kristallstruktur von LIPR10.1B (blau). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 1.6, Abb. 4.5 bis Abb. 4.9, Abb. 4.14 und Abb. 4.21. Zwischen den Proteinen sind kaum Unterschiede in der Faltung zu erkennen, insbesondere was die β-Faltblattstränge und die P-Schleife (ganz unten) anbetrifft. Wegen einer Lücke im Sequenzalignment an Position 33 (Abb. 1.4) müssen Gly m 4, LIPR10.1A und LIPR10.1B die Ausbauchung zwischen der Helix  $\alpha_2$  und dem Faltblattstrang  $\beta_2$  von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt (Stern) durch eine näherungsweise gestreckte Konformation der Reste 33 - 35 überbrücken. Eine weitere Lücke im Sequenzalignment an Position 127 (Abb. 1.4) verkürzt bei LlPR10.1A und LlPR10.1B zudem die Schleife zwischen dem Faltblattstrang  $\beta_7$ und der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  (ganz links). Weitere Unterschiede sieht man in der mit einem Pfeil markierten schleifenartigen Region zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_3$  und  $\beta_4$  im Vordergrund, wo die Kristallstruktur von Bet v 1.2801 von Glu 60 bis Lys 65 aus zwei Konformeren besteht und das Proteinrückgrat von Pru av 1 wt eine erhöhte Flexibilität aufweist (Abschnitt 4.1), wohingegen Gly m 4, LIPR10.1A und LIPR10.1B eine etwas regulärere Hairpin-Konformation zeigen. Auch im Bereich zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_5$  und  $\beta_6$  (vorne links) sowie am COOH-Terminus erkennt man Unterschiede. Besonders auffällig ist jedoch die starke Biegung in der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$  von LIPR10.1A und LIPR10.1B, die im Vergleich zu Gly m 4, Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt mit einer Verschiebung dieser Helix entlang ihrer Achse um teilweise mehr als eine halbe Helixwindung einhergeht und im Falle von LIPR10.1A möglicherweise durch Kontakte mit Molekülen aus benachbarten asymmetrischen Einheiten verstärkt wird (Biesiadka et al. 2002).

## 4.7 Strukturbestimmung von holo Bet v 4

# 4.7.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen und Bestimmung der skalaren Kopplungskonstanten

Die Amidresonanzen des Proteinrückgrats von holo Bet v 4 (Abb. 4.25) zeigen wegen des deutlich geringeren Anteils von  $\beta$ -Faltblattsträngen an der Sekundärstruktur (Abschnitt 4.7.3.1) eine etwas schlechtere spektrale Dispersion als die von Pru av 1 wt (Abb. 4.2), Pru av 1 E45W (Abb. 4.13) und Gly m 4 (Abb. 4.15). Eine Überprüfung der in der Dissertation von J. Nerkamp (2002) nach der Standardmethode (Wüthrich 1986, Kapitel 8) auf der Grundlage des HNHA, des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC, des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC und des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N/<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HMQC-NOESY-HSQC (Tab. 3.1) vorgenommenen sequenzspezifischen Zuordnung der Amidresonanzen des Proteinrückgrats mit Hilfe der in dieser Arbeit erstmalig zur Verfügung stehenden Tripelresonanzexperimente HNCO, HNCA und C(CO)NH (Tab. 3.1) führte zu einer Korrektur der sequenzspezifischen Zuordnung der NH<sub>2</sub>-terminalen Reste bis Asp 7 sowie von Phe 63 und Glu 65. Insgesamt konnten so alle 81 Amidresonanzen des Proteinrückgrats und die Epsilonresonanzen aller 5 Arginine identifiziert werden (Abb. 4.25) sowie die Resonanzen aller H $\alpha$ - und C $\alpha$ -Atome und aller 81 durch die Peptidbindung kovalent mit einer Amidgruppe verbundenen CO-Atome.

Ausgehend von der Kenntnis der chemischen Verschiebungen der Amidresonanzen des Proteinrückgrats wurden anschließend mit Hilfe des 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC, des C(CO)NH, des H(C)CH-COSY und des (H)CCH-COSY die Resonanzen der aliphatischen Seitenketten soweit wie möglich vervollständigt. Das zur Identifizierung von Wasserstoffbrücken gemessene H(N)CO-Spektrum (Abschnitt 3.1.5.3) lieferte außerdem die chemischen Verschiebungen der C $\gamma$ -Atome von Asp 2, Asp 3, Asp 7, Asp 19 und Asp 54 (Abb. 4.30). Die spektrale Dispersion der Alpharesonanzen (Abb. 4.26) und der Methylgruppenresonanzen (Abb. 4.27) im <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC von Tab. 3.1 ist wie die der Amidresonanzen (Abb. 4.25) etwas schlechter als die von Gly m 4 (Abb. 4.16 und Abb. 4.17).



Abb. 4.25 Überlagerung der <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektren von einfach markiertem apo Bet v 4 nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> in Überschuss bei T = 298 K (positive Signale in rot, negative Signale in magenta) und bei T = 333 K (positive Signale in grün, negative Signale in gelb) sowie doppelt markiertem holo Bet v 4 (Probe I, siehe Abschnitt 3.1.1; positive Signale in schwarz, negative Signale in blau) bei T = 298 K. Die Resonanzen der Amidprotonen sind mit ihrer Position in der Aminosäuresequenz bezeichnet. Negative Signale sind in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 gefaltet. Die Epsilonresonanzen der Arginine und die frequenzdegenerierte Etaresonanz von Arg 13 sind in der indirekten <sup>15</sup>N-Dimension F1 zweimal gefaltet und ihre Signale daher wieder positiv. Auf eine Darstellung des <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrums nach erneuter Abkühlung auf T = 298 K wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet, da es mit dem <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum bei T = 298 K vor dem Aufheizen auf T = 333 K praktisch identisch ist.



Abb. 4.26 Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC von holo Bet v 4, in dem sich die Alpharesonanzen befinden. Die Zahl in der Beschriftung gibt die Sequenzposition der jeweiligen Aminosäure an. Nicht zu sehen sind die Alpharesonanzen der Glycine, die in einem anderen Bereich des Spektrums liegen. Die Dispersion der Signale ist zwar etwas schlechter als die von Gly m 4 (Abb. 4.16), wegen der geringeren Anzahl an Resonanzen jedoch ausreichend. Die geringe Anzahl tieffeldverschobener Hα-Resonanzen links von der fast vollständig unterdrückten Wasserlinie bei etwa 4,7 ppm lässt einen niedrigen Anteil von β-Faltblattsträngen an der Sekundärstruktur von holo Bet v 4 erwarten (vgl. Abschnitt 3.1.5.9).



Abb. 4.27 Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC von holo Bet v 4, in dem sich die Methylgruppenresonanzen befinden. Die Zahl in der Beschriftung gibt die Sequenzposition der jeweiligen Aminosäure an. Auch die Methylgruppen zeigen eine im Vergleich zu denen von Gly m 4 (Abb. 4.17) etwas schlechtere, wegen der geringen Anzahl an Resonanzen aber ausreichende spektrale Dispersion. Die stark hochfeldverschobene Resonanz eines der beiden Methylenprotonen von Ile 53 bei – 0,41 *ppm*, die den kleinsten Werte aller <sup>1</sup>H-Resonanzen von holo Bet v 4 darstellt, ist die Folge von Ringstromeffekten (Wüthrich 1986, Abschnitt 3.1) der in den fertigen Strukturen (siehe Abschnitt 4.7.3.1) räumlich benachbarten aromatischen Seitenkette von Phe 69.

Da die skalare Kopplung zwischen den Hβ-Atomen einer aromatischen Aminosäure und den Wasserstoffatomen des Aromatenrings zu schwach ist, um im 2D-TOCSY oder im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-TOCSY-HSQC beobachtet zu werden, mussten zur sequenzspezifischen Zuordnung der Protonenresonanzen der Aromatenringe NOESY-Experimente herangezogen werden, vor allem das 2D-NOESY in D<sub>2</sub>O, das 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC und das 3D-<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-NOESY-HSQC (Tab. 3.1). Das 2D-TOCSY in D<sub>2</sub>O wurde dazu verwendet, die skalare Kopplung zwischen den verschiedenen Wasserstoffatomen eines Aromatenrings zu beobachten. Auch die Zuordnung der Resonanzen der Histidinringe, der Seitenkettenamide der Asparagin-, Glutamin- und Arginin-Reste (siehe Abb. 4.25) sowie der langsam austauschenden Hydroxylprotonen bei Ser 27 und Ser 62 erfolgte auf der Grundlage der NOESY-Experimente.

Auf der Grundlage des HNHA-Experiments konnten 66  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ -Kopplungskonstanten von holo Bet v 4 bestimmt werden (vgl. Abschnitt 3.1.5.2); bei den übrigen 7 der 73 Aminosäuren mit Ausnahme des NH<sub>2</sub>-terminalen Ala 1, die weder ein Prolin noch ein Glycin darstellen, scheiterte meist die Bestimmung der Intensität der Diagonalresonanz  $I_{d}$  an der spektralen Überlappung.

Insgesamt konnten 934 der 1058 zu erwartenden chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>Cund <sup>15</sup>N-Kerne von holo Bet v 4 eindeutig zugeordnet werden (88,3 %), insbesondere 498 der 536 zu erwartenden <sup>1</sup>H-Resonanzen (92,9 %). Sie wurden zusammen mit den 66 <sup>3</sup> $J_{HN H \alpha}$ -Kopplungskonstanten und den gemessenen Relaxationsdaten (Eisenmann 2001; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung) in der BioMagResBank unter der Kennung 5707 hinterlegt und sind in Anhang 10.1.3 bzw. 10.2.3 abgedruckt.

#### 4.7.2 Experimentelle Strukturinformationen

#### 4.7.2.1 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen

Da im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC die NOEs der Amidprotonen beobachtet werden und deren Resonanzen auch bei holo Bet v 4 noch eine ausreichende spektrale Dispersion aufweisen (siehe Abb. 4.25), wurde dieses NMR-Spektrum systematisch nach eindeutig identifizierbaren NOE-Kreuzresonanzen durchsucht (vgl. Abschnitt 3.1.5.1) und lieferte daher mit 1269 Abstandsbeschränkungen, die in Anhang 10.5.3.1 aufgelistet sind, den weitaus größten Beitrag zu den in der Strukturberechnung verwendeten experimentellen Randbedingungen. In Abb. 4.28 sind als Beispiel die in diesem Spektrum sichtbaren NOE-Kreuzresonanzen der Amidprotonen von Gln 64, Glu 65, Phe 66, Thr67 und Asp 68 dargestellt.



Abb. 4.28 NOE-Kreuzresonanzen der Amidprotonen von Gln 64, Glu 65, Phe 66, Thr 67 und Asp 68 (von links nach rechts) im 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC. Die fünf Streifen sind in F3 jeweils 0,40 *ppm* breit und liegen in drei verschiedenen Ebenen der <sup>15</sup>N-Dimension F2. In der Beschriftung ist jeweils zuerst dieses Amidproton angegeben (64.HN, 65.HN, 66.HN, 67.HN bzw. 68.HN) und dann durch Leerzeichen getrennt die NOE-Partner. Deutlich zu sehen sind die sequentiellen und mittelreichweitigen NOE-Kreuzresonanzen; besonders markant dabei die gekennzeichneten fast starken (vgl. Abschnitt 3.1.5.1) NOE-Kreuzresonanzen zwischen den Amidproton und den Alphaprotonen der vier sequentiell vorhergehenden Reste, die charakteristisch für α-Helices sind (Wüthrich 1986, Abschnitt 7.4). Die starke Frequenzdegeneration (z. B. bei den Alphaprotonen von Glu 65 und Phe 66) konnte oft durch Hinzuziehen weiterer Spektren aufgehoben werden.

Wegen der großen Anzahl an Abstandsbeschränkungen aus dem 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC war es ausreichend, das 3D-1H,13C-NOESY-HSQC nur unterstützend nach NOE-Kreuzresonanzen zu durchsuchen; die daraus resultierenden 8 Abstandsbeschränkungen sind in Anhang 10.5.3.2 zu finden. Allerdings ermöglichte das 3D-1H,13C-NOESY-HSQC darüber hinaus eine Aufhebung der Frequenzdegeneration vieler NOE-Kreuzresonanzen im 3D-<sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N-NOESY-HSQC und eine Klärung der Konformation der NH2-seitigen Peptidbindungen der beiden Prolin-Reste von holo Bet v 4. Wie bereits die chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>Ca- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne vermuten lassen, die mit 64,64 ppm bzw. 32,20 ppm bei Pro 5 und 65,81 ppm bzw. 31.91 ppm bei Pro 43 (Anhang 10.1.3) deutlich besser zu den chemischen Verschiebungen bei Prolinen in unstrukturierten Peptiden in trans-Konfiguration von 63,3 ppm bzw. 32,1 ppm passen als in cis-Konfiguration von 62,8 ppm bzw. 34,5 ppm (Wishart und Case 2001), zeigen beide Proline eindeutig das NOE-Muster eines Prolins mit einer NH<sub>2</sub>-seitigen Peptidbindungen in trans-Konfiguration (Abb. 4.29). Auffällig ist jedoch, dass die Amidresonanz von Thr 42 bei verschiedenen Proben von holo Bet v 4 nur schlecht reproduzierbar ist (siehe auch Abb. 4.25), und bei der einfach markierten Probe F (Abschnitt 3.1.1) beobachtet man sogar zusätzlich zur Hauptresonanz bei  $\delta^{(1}HN) = 8.25 \ ppm$  und  $\delta^{(15}N) = 118.23 \ ppm$ noch eine weitere Resonanz bei  $\delta({}^{1}HN) = 8.17 \ ppm$  und  $\delta({}^{15}N) = 117.92 \ ppm$  mit einer etwa um den Faktor 7 schwächeren Intensität. Leider lässt sich wegen der fehlenden Markierung mit <sup>13</sup>C und der starken spektralen Überlappung in den 2D-NOESY-Spektren weder anhand der chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>Ca- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne noch anhand des NOE-Musters eindeutig klären, ob dies die Folge unterschiedlicher Gleichgewichte zwischen der cisund trans-Konfiguration der Peptidbindung zwischen Thr 42 und Pro 43 bei verschiedenen Proben mit vielleicht geringfügig verschiedenen Pufferbedingungen ist. Dagegen spricht jedoch, dass die Amidresonanzen von Ile 41 und Asp 44 sowie die <sup>1</sup>H-Seitenkettenresonanzen von Thr 42 und Pro 43 bereits weit weniger streuen (siehe auch Abb. 4.25), dass keine deutlichen Unterschiede im NOE-Muster zwischen den verschiedenen Proben und bei der Probe F (Abschnitt 3.1.1) zwischen den beiden Amidresonanzen von Thr 42 erkennbar waren, und dass in allen Fällen die NOE-Kreuzresonanz zwischen dem Amidproton von Thr 42 und den Deltaprotonen von Pro 43 zwar schwach war, aber stärker als die zwischen dem Amidproton von Thr 42 und dem Alphaproton von Pro 43, was eher für eine trans-Konfiguration spricht (Wüthrich 1986, Abschnitt 7.3). 165 weitere, in Anhang 10.5.3.3 aufgeführte Abstandsbeschränkungen ergaben sich aus der Auswertung des 2D-NOESY-Experiments in D<sub>2</sub>O (vgl. Abschnitt 3.1.5.1).



Abb. 4.29 NOE-Kreuzresonanzen des Alphaprotons von His 4, der fast frequenzdegenerierten Deltaprotonen von Pro 5, des Alphaprotons von Thr 42 und der fast frequenzdegenerierten Deltaprotonen von Pro 43 (von links nach rechts) im 3D-<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NOESY-HSQC. Die vier Streifen sind in F3 jeweils 0,40 *ppm* breit und liegen in drei verschiedenen Ebenen der <sup>13</sup>C-Dimension F2. Deutlich zu sehen sind die gekennzeichneten und wie in Abb. 4.28 beschrifteten NOE-Kreuzresonanzen jeweils zwischen den Deltaprotonen des Prolins und dem Alphaproton des in der Aminosäuresequenz unmittelbar vorhergehenden Rests, wohingegen die NOE-Kreuzresonanzen jeweils zwischen den beiden Alphaprotonen (4,40 *ppm* bei Pro 5 bzw. 4,26 *ppm* bei Pro 43, siehe Anhang 10.1.3) zu schwach sind, um beobachtet zu werden. Dieses NOE-Muster ist charakteristisch für Proline mit einer NH<sub>2</sub>-seitigen Peptidbindung in trans-Konfiguration (Wüthrich 1986, Abschnitt 7.3).

414 von diesen insgesamt 1442 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen sind intraresidualer Art; die interresidualen Abstandsbeschränkungen teilen sich auf in 443 sequentielle (d. h. die Aminosäuren der beiden Atome sind in der Sequenz benachbart), 394 mittelreichweitige (d. h. die Aminosäuren der beiden Atome sind maximal fünf Sequenzpositionen voneinander entfernt) sowie 191 langreichweitige (d. h. die Aminosäuren der beiden Atome sind mindestens sechs Sequenzpositionen voneinander entfernt).

## 4.7.2.2 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten

Von den 66 bestimmten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ -Kopplungskonstanten von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.1) haben 40 einen Wert kleiner als 6,0 *Hz* und 10 einen Wert größer als 8,0 *Hz*; daraus ergaben sich die in Anhang 10.5.3.4 abgedruckten 50 Beschränkungen der Diederwinkel (vgl. Abschnitt 3.1.5.2).

## 4.7.2.3 Identifizierung von Wasserstoffbrücken

Mit Hilfe zweier H(N)CO-Spektren (Abb. 4.30) konnten wie in Abschnitt 3.1.5.3 beschrieben vier intraresiduale skalare Kopplungskonstanten  ${}^{2}J_{NCO}$ , drei intraresiduale skalare Kopplungskonstanten  ${}^{3h}J_{NCO}$  über Wasserstoffbrücken von holo Bet v 4 quantitativ gemessen werden, die in Tab. 4.7 aufgeführt sind. Die skalare Kopplung zwischen dem Amidstickstoff und dem Carboxylkohlenstoff von Asp 19 ist ganz offensichtlich nicht korrekt, sondern wird betragsmäßig deutlich überschätzt. Tab. 4.7 zeigt auch, dass dies an der ungewöhnlich niedrigen Intensität  $I_{ref}$  der durch den Kohärenztransfer über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{1}J_{NCO}$  hervorgerufenen Kreuzresonanz zwischen dem Amidproton von Asp 19 und dem Carboxylkohlenstoff von Phe 18 im H(N)CO-Referenzspektrum liegt.

Das Rauschniveau von  $I_{lr} = 1,284 a. u.$  im für die Beobachtung des schwachen Kohärenztransfers über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{3h}J_{NCO}$  optimierten H(N)CO ergab je nach Intensität  $I_{ref}$  der jeweiligen durch den Kohärenztransfer über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{1}J_{NCO}$  hervorgerufenen Kreuzresonanz im H(N)CO-Referenzspektrum nach (3.4) eine Detektionsgrenze für die skalaren Kopplungskonstanten (Grzesiek et al. 2001) von in der Regel zwischen etwa |J| > 0,4 Hz und |J| > 0,8 Hz (Mittelwert |J| > 0,60 Hz bei einer Standardabweichung von 0,23 Hz).



Abb. 4.30 Überlagerung des für die Beobachtung des schwachen Kohärenztransfers über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{3h}J_{NCO}$  durch weitgehende Unterdrückung des Kohärenztransfers über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{1}J_{NCO} \approx 15 Hz$  optimierten H(N)CO-Spektrums (schwarz) mit dem für den Kohärenztransfer über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{1}J_{NCO} \approx 15 Hz$  bei gleichem Relaxationsintervall optimierten H(N)CO-Referenzspektrum (rot). Die durch die Anzahl der Konturlinien angegebenen Intensitäten sind zwischen den beiden Spektren aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht maßstabsgetreu. Die Beschriftung gibt durch Leerzeichen getrennt die beiden beobachteten Kerne der jeweiligen Kreuzresonanz im für die Beobachtung des schwachen Kohärenztransfers über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{3h}J_{NCO}$  optimierten H(N)CO an. Die drei durch Wasserstoffbrücken hervorgerufenen Resonanzen sind wegen ihrer extrem geringen Intensitäten durch grüne Kreise mit grüner Beschriftung hervorgehoben.

Amidstickstoff	Carbonyl- oder Carboxylkohlenstoff	$I_{lr}$ / a. u.	I ref / a. u.	J / Hz
Asp 2 N	Asp 2 Cy	26,710	26,910	-1,192
Asp 3 N	Asp 3 CO	1,770	36,140	0,265
Asp 7 N	Asp 7 Cγ	4,980	8,340	-0,924
Asp 19 N	Asp 19 Cy	24,820	2,070	-4,142
Ile 26 N	Ile 61 CO	1,310	5,680	-0,575
Leu 31 N	Ser 27 CO	1,640	8,150	-0,537
Lys 47 N	Lys 47 CO	1,330	10,280	0,431
Met 50 N	Met 50 CO	1,730	7,310	0,582
Gln 64 N	Gln 64 CO	1,310	5,950	0,561
Phe 66 N	Ser 62 CO	1,290	6,320	-0,541

**Tab. 4.7 Quantitativ gemessene skalare Kopplungskonstanten**  ${}^{2}J_{NCO}$ ,  ${}^{3}J_{NCY}$  und  ${}^{3h}J_{NCO}$  von holo **Bet v 4.** Die vermutlich wegen außergewöhnlicher Relaxationsphänomene offensichtlich nicht korrekte skalare Kopplungskonstante  ${}^{3}J_{NCY}$  von Asp 19 ist kursiv gesetzt.

Da die skalare Kopplungskonstante über eine sekundärstrukturtypische Wasserstoffbrücke in  $\alpha$ -Helices der typischen Länge von 2,06 Å  $\pm 0,16$  Å zwischen Amidproton und Akzeptor mit typischerweise  ${}^{3h}J_{NCO} \approx -0.38 Hz \pm 0.12 Hz$  (Grzesiek et al. 2001) meist unter dieser Detektionsgrenze liegt, konnten die meisten Wasserstoffbrücken von holo Bet v 4 jedoch nicht direkt beobachtet werden. Allerdings konnte zusätzlich zu den drei direkt identifizierten Wasserstoffbrücken, deren Donoramidprotonen allesamt noch mindestens 3h nach dem Lösen in einer wässrigen 10 mM Natriumacetat-Lösung (pH = 6.0) in 100 % D<sub>2</sub>O mit 25 mM CaCl<sub>2</sub> sichtbar waren, in weiteren 19 Fällen anhand der aus der letzten Testrechnung erhaltenen Strukturen bei den langsam austauschenden Amidprotonen auf das Vorliegen einer Wasserstoffbrücke geschlossen und der Akzeptor eindeutig identifiziert werden. Unter diesen insgesamt 22 Wasserstoffbrücken befanden sich interessanterweise neben den 20 sekundärstrukturtypischen Wasserstoffbrücken auch zwei Wasserstoffbrücken zwischen dem Amidproton von Gly 24 und der eines der beiden Calciumionen ligierenden Carboxylgruppe von Asp 19 in der ersten EF-Hand sowie analog zwischen dem Amidproton von Gly 59 und der Carboxylgruppe von Asp 54 in der anderen EF-Hand. Die daraus resultierenden 44 Abstandsbeschränkungen (vgl. Abschnitt 3.1.5.3), zu finden in Anhang 10.5.3.5, wurden in die endgültige Strukturberechnung mit einbezogen und konnten allesamt erfüllt werden, bei den 25 akzeptierten Strukturen von Abschnitt 4.7.3.1 tritt keine einzige Verletzung um mehr als 0,1 Å auf. In jeweils allen 25 dieser Strukturen besitzen die  $N - H \cdots O$ -Winkel aller so identifizierter Waserstoffbrücken mit einer Carbonylgruppe als Akzeptor einen Wert von mindestens 120°.

#### 4.7.2.4 Dipolare Kopplungskonstanten

Auf der Grundlage der <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-IPAP-Spektren konnten wie in Abschnitt 3.1.5.4.2 beschrieben die in Anhang 10.3.2 abgedruckten 68 dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  von durch Zugabe von  $11 \frac{mg}{ml}$  filamentösen Pf1-Bakteriophagen (Hansen et al. 1998) schwach ausgerichtetem holo Bet v 4 bestimmt werden; daraus ergaben sich unter Berücksichtigung der generalisierten Ordnungsparameter  $S_{RSDM}$  aus dem RSDM die in Anhang 10.5.3.6 abgedruckten 61 experimentellen Randbedingungen (vgl. Abschnitt 3.2.3.3). Der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  von holo Bet v 4 in diesem Medium zeigt eine für die vergleichsweise geringe Konzentration an Pf1-Bakteriophagen betragsmäßig relativ große Anisotropie von  $D_a = -12,7 Hz$  (Abschnitt 3.1.5.4.2), was auf eine relativ starke Wechselwirkung mit dem Protein schließen lässt, und weicht mit einer aus den Extremwerten dieser 69 dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  geschätzten (Clore et al. 1998) Rhombizität von R = 0,37 (Abschnitt 3.1.5.4.2) deutlich von der Axialsymmetrie ab.

## 4.7.2.5 Chemische Verschiebungen der <sup>13</sup>Cα- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne

Wie in Abschnitt 3.2.3.4 beschrieben konnte für alle 74 Reste mit Ausnahme des NH<sub>2</sub>- und des COOH-terminalen Rests sowie der Glycine jeweils eine experimentelle Randbedingung eingeführt werden, die in Anhang 10.5.3.7 abgedruckt sind.

#### 4.7.2.6 Analyse der Sekundärstruktur auf der Grundlage der experimentellen Daten

Alle diese experimentellen Daten ermöglichten auch ohne explizite Berechnung der Struktur bereits eine recht zuverlässige Identifizierung der Sekundärstrukturelemente von holo Bet v 4. Das Ergebnis der in Abschnitt 3.1.5.9 beschriebenen Sekundärstrukturanalyse nach Wishart für holo Bet v 4 ist in Abb. 4.31 dargestellt. Ein Vergleich mit den an den fertigen Strukturen von holo Bet v 4 identifizierten Sekundärstrukturelementen (siehe Abschnitt 4.7.3.1) zeigt, dass alle fünf  $\alpha$ -Helices sowie trotz seiner Kürze auch einer der beiden  $\beta$ -Faltblattstränge bereits erkannt werden, und bei dem wegen seiner Kürze nicht erkannten anderen  $\beta$ -Faltblattstrang von Phe 60 bis Ser 62 ist zumindest die richtige Tendenz erkennbar. Sogar die Enden der jeweiligen Sekundärstrukturelemente werden gut vorhergesagt, wenn man einmal davon absieht, dass sich die ersten Reste der beiden Calciumbindungsschleifen jeder EF-Hand wegen der näherungsweise helikalen Konformation ihres Proteinrückgrats nur schwer von der jeweils vorhergehenden  $\alpha$ -Helix abgrenzen lassen.



Abb. 4.31 Chemische Verschiebungsindizes der 84 Aminosäurebausteine von holo Bet v 4. Die oberen drei Abbildungen zeigen die chemischen Verschiebungsindizes der Hα-, Cα- bzw. CO-Atome, die untere den daraus bestimmten Konsensus-Index. Die drei einzelnen Indizes stimmen gut miteinander überein, so dass man in vielen Fällen einen von 0 verschiedenen Konsensus-Index erhält. Aus dem Konsensus-Index ergeben sich nach den in Abschnitt 3.1.5.9 angegebenen Regeln fünf α-Helices an den Sequenzpositionen 5 - 20, 28 - 37, 43 - 58, 63 - 71 und 74 - 80 sowie ein β- Faltblattstrang an den Sequenzpositionen 25 - 27.

Neben den Werten für die chemischen Verschiebungen sind in den experimentellen Daten jedoch noch eine Menge weitere Informationen über die Sekundärstruktur des Proteins enthalten; dazu zählen vor allem sekundärstrukturtypische NOEs (siehe Wüthrich 1986, Abschnitt 7.4) und die Größe der skalaren Kopplungskonstante  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  (vgl. Abschnitt 3.1.5.2). Diese Informationen sind in Abb. 4.32 zusammengefasst:



Abb. 4.32 Schematische Darstellung der sekundärstrukturtypischen experimentellen Daten von holo Bet v 4. In der obersten Zeile ist jeweils die Sequenzposition angegeben, darunter der zugehörige Aminosäuretyp im Ein-Buchstaben-Code. Es folgen die sekundärstrukturtypischen NOEs, wobei die Dicke des Balkens die in Abschnitt 3.1.5.1 beschriebene Klassifizierung in stark, mittel und schwach wiedergibt. Besonders charakteristisch für β-Faltblattstränge sind starke sequentielle Alphaproton-Amidproton-NOEs, hier mit dαN(i,i+1) bezeichnet. In α-helikalen Bereichen hingegen beobachtet man typischerweise starke bis mittlere sequentielle Amidproton-Amidproton-NOEs dNN(i,i+1) und mittlere bis schwache Alphaproton-Amidproton-NOEs zwischen drei Sequenzpositionen voneinander entfernten Resten dαN(i,i+3) (vgl. Abb. 4.27). Ein weißes Quadrat in der mit JαN bezeichneten Bahn bedeutet eine skalare Kopplungskonstante <sup>3</sup>  $J_{HNH\alpha}$ , wie sie in α-Helices bevorzugt auftritt; durch ein schwarzes Quadrat symbolisierte Kopplungskonstanten sind charakteristisch für β-Faltblattstränge. Die nächste Zeile enthält jeweils den Konsensus-Index CSI der chemischen Verschiebungen aus Abb. 4.31. Zum Vergleich ist ganz unten die Sekundärstruktur von holo Bet v 4 aufgetragen, wie sie sich aus den fertigen Strukturen ergibt (siehe Abschnitt 4.7.3.1); sie passt hervorragend zu den NMR-spektroskopischen Daten in dieser Abbildung.

Obwohl die Interpretation der gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  von holo Bet v 4 (Anhang 10.3.2) wegen der deutlichen Abweichung des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  von der Axialsymmetrie (Abschnitt 4.7.2.4) nicht ganz so offensichtlich ist wie bei Gly m 4 (Abschnitt 4.6.2.3), ist ihre Betrachtung trotzdem durchaus hilfreich bei der Identifizierung der Sekundärstrukturelemente, da die geringen Abweichungen von der Parallelität der N-NH-Bindungsvektoren wie in Abschnitt 4.6.2.3 beschrieben in allen fünf  $\alpha$ -Helices zu einer gewissen Modulation der dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  mit einer Periode von 3,6 Resten führen (Anhang 10.3.2). Die Achse der NH<sub>2</sub>-terminalen Helix  $\alpha_1$  liegt zudem in etwa parallel zur z-Achse des Hauptachsensystems des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  (Polarwinkel  $\theta \approx 0$ ), da dort mehrere dipolare Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  von annähernd  $2D_a = -25,46 Hz$  gemessen werden (siehe Abschnitt 3.1.5.4.2). Der negative Wert der Anisotropie  $D_a$  des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  und damit der dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  in der NH<sub>2</sub>-terminalen Helix  $\alpha_1$  weist nach (3.10) darauf hin, dass die z-Achse des Hauptachsensystems des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  bzw. die Achse der NH<sub>2</sub>terminalen Helix  $\alpha_1$  bevorzugt in etwa senkrecht zum statischen äußeren Magnetfeld  $\overline{B}_0$  und damit zur Achse der filamentösen Pf1-Bakteriophagen ausgerichtet ist ( $\langle \theta_m \rangle \approx 90^\circ$ ).

#### 4.7.3 Berechnete Strukturen

#### 4.7.3.1 Mit dipolaren Kopplungskonstanten berechnete Strukturen

Die insgesamt 1671 experimentellen Randbedingungen aus den Abschnitten 4.7.2.1 bis 4.7.2.5 dienten als Grundlage für die Strukturbestimmung von holo Bet v 4. Mit der in Abschnitt 3.2.4 beschriebenen Simulated-Annealing-Strategie wurden dazu 90 Strukturen berechnet. Während der Rechnung selbst kam dabei auch die gaußförmige Version des Datenbank-Terms E<sub>db</sub> mit einem Grenzwert von 10,0 Standardabweichungen zum Einsatz, bei der Analyse der Strukturen wurde die Zielfunktion E pot jedoch immer ohne diesen Term sowie ohne den Potentialterm für die chemischen Verschiebungen der  ${}^{13}C\alpha$ - und  ${}^{13}C\beta$ -Kerne  $E_{carbon}$  und den Gyrationsradius-Potentialterm  $E_{rgyr}$  berechnet, um so die Vergleichbarkeit mit der Zielfunktion von ohne diese Potentialterme berechneten Strukturen zu gewährleisten. Außerdem wurden die korrigierten Standardparameter der kovalenten Geometrie (Abschnitt 4.4) verwendet. Leider sind an der Koordination der beiden Calciumionen keine Wasserstoffatome beteiligt, so dass aus den durchgeführten NMR-Experimenten keine experimentellen Randbedingungen für die Geometrie dieser Koordination selbst gewonnen werden konnten. Da die zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen für das Proteinrückgrat der beiden Calciumbindungsschleifen und die Seitenketten der an der Koordination beteiligten Reste jedoch mit der auf Grund der hohen Sequenzidentität in diesem Bereich (Abb. 1.10) zu erwartenden Koordination durch jeweils sechs Sauerstoffatome des Proteins an den Ecken einer pentagonalen Bipyramide (Abschnitt 1.2.3) wie bei Calmodulin und den meisten anderen EF-Hand-Proteinen (zusammengefasst in Strynadka und James 1989; Lewit-Bentley und Réty 2000) konsistent waren, wurde die Koordination der beiden Calciumionen wie in Abschnitt 3.2.2.4 beschrieben entsprechend modelliert. Von den 90 berechneten Strukturen wurden die 25 Strukturen mit den niedrigsten Werten der Zielfunktion  $E_{pot}$  als konvergierte

Strukturen akzeptiert. Bei diesen 25 Strukturen beobachtet man keine einzige Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,3 Å sowie keine systematische Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,15 Å. Die Atomkoordinaten der 25 akzeptierten Strukturen wurden unter der Kennung 1H4B in der Protein Data Bank hinterlegt, einschließlich der verwendeten experimentellen Randbedingungen unter der Kennung R1H4BMR.

Tab. 4.8 enthält eine Zusammenfassung der wichtigsten Strukturparameter von holo Bet v 4. Die mittlere Verletzung der experimentellen Randbedingungen sowie die Abweichung von der idealen Geometrie ist klein. Die geringe Streuung der atomaren Koordinaten der 25 Strukturen um die der mittleren Struktur von 0,41 Å für das Proteinrückgrat und 0,69 Å für alle schweren Atome zeigt, dass es sich bei holo Bet v 4 um eine gut definierte Struktur handelt; dies ist auch aus der in Abb. 4.33 dargestellten Überlagerung der Proteinrückgrate klar ersichtlich.

Für die Strukturberechnung verwendet	te experimentelle Randbeding	ungen
Intraresiduale NOEs		414
Interresiduale NOEs	sequentiell	443
	mittelreichweitig	394
	langreichweitig	191
Beschränkungen der Diederwinkel		50
Wasserstoffbrücken		22
Dipolare Kopplungskonstanten		61
Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne	jeweils	74
Statistik der Moleküld	ynamik-Simulation	
Energien / kcal/mol	E <sub>pot</sub>	$55,8 \pm 1,5$
	E bonds	$4,27 \pm 0,12$
	E angles	$21,4 \pm 0,8$
	E impropers	$8,8 \pm 0,3$
	$E_{VdW}$	$5,7 \pm 0,6$
	$E_{_{NOE}}$	$13,2 \pm 0,6$
	$E_{cdih}$	$0,0003 \pm 0,0008$
	$E_{_{rdc}}$	$2,5 \pm 0,3$
Standardabweichungen von den idealen Abständen / Å	Bindungslängen	$0,00180 \pm 0,0000$
	Abstandsbeschränkungen	$0,0133 \pm 0,0003$
Standardabweichungen von den idealen Winkeln / $^\circ$	Bindungswinkel	$0,243 \pm 0,005$
	Diederwinkel	$0,\!338\pm0,\!004$
	Diederwinkelbeschränkungen	$0,\!002\pm0,\!003$
Standardabweichungen von den idealen dipolaren Kopplungskonstanten / Hz		$0,202 \pm 0,010$
Standardabweichungen von den idealen chemischen	<sup>13</sup> Cα	$1,\!18\pm0,\!03$
Verschiebungen / ppm	$^{13}C\beta$	$0,84 \pm 0,03$
Gyrationsradius der regulären Sekundärstruktur <sup>b</sup> / Å	$R_{gyr}$	$11,\!78\pm0,\!03$
Atomare Standardabweichunge	n von der mittleren Struktur	
	Proteinrückgrat	Schwere Atome
Gesamte Struktur <sup>a</sup>	0,41 Å $\pm$ 0,11 Å	0,69 Å $\pm$ 0,08 Å
Reguläre Sekundärstruktur <sup>b</sup>	0,22 Å $\pm$ 0,08 Å	0,57 Å $\pm$ 0,09 Å

nnten. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die 25 akzeptierten Strukturen nach dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung, abgesehen von den verwendeten experimentellen Randbedingungen.

a Aminosäuren 1 - 84

## 4. Experimente und Ergebnisse



Abb. 4.33 Überlagerung der 25 akzeptierten Strukturen von holo Bet v 4. Dargestellt ist jeweils das Proteinrückgrat. Die C-Atome sind grau farbcodiert, die N-Atome blau. Der NH<sub>2</sub>-Terminus befindet sich rechts unten, der COOH-Terminus ganz oben. Mit Ausnahme der NH<sub>2</sub>-terminalen Reste von Ala 1 bis His 4, die eine erhöhte Flexibilität des Proteinrückgrats aufweisen (Eisenmann 2001, Abschnitt 4.4; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung), stimmen die 25 Strukturen hervorragend miteinander überein, insbesondere was die beiden EF-Hände anbetrifft.

Die mit Hilfe von PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996) identifizierten regulären Sekundärstrukturelemente von holo Bet v 4 sind in Abb. 4.34 schematisch dargestellt. Eine Analyse der durch die Torsionswinkel  $\Phi$  und  $\Psi$  charakterisierten Proteinrückgrat-Konformationen mit PROCHECK 3.4 (Laskowski et al. 1993; Laskowski et al. 1996) ergibt, dass 94,2 % aller Aminosäuren der 25 akzeptierten Strukturen sterisch besonders bevorzugte Konformationen annehmen (vgl. Abb. 4.35) und insgesamt 100,0 % sterisch günstige. Zum Vergleich: Solche Werte sind typisch für bei einer Auflösung von 1,0 Å bestimmte Kristallstrukturen. Aus sterischen Gründen verbotene Konformationen werden in keinem einzigen Fall beobachtet. Nicht berücksichtigt sind bei der Berechnung dieser Werte jeweils die sehr flexiblen Glycine sowie die starren Proline.



Abb. 4.34 Schematische Darstellung der regulären Sekundärstrukturelemente anhand der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion E<sub>pot</sub> von holo Bet v 4. Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 4.33. Die Helices  $\alpha_1$  (Reste 5-18) und  $\alpha_2$  (Reste 28-38) sowie  $\alpha_3$  (Reste 43-53) und  $\alpha_4$  (Reste 63-72) bilden zwei kanonische EF-Hände in offener Konformation (d. h. mit zwei fast senkrecht zueinander stehenden Helices), die durch ein kurzes antiparalleles  $\beta$ -Faltblatt aus den beiden Faltblattsträngen  $\beta_1$  und  $\beta_2$  gepaart sind. Die gegenseitige Orientierung der  $\beta$ -Faltblattstränge ist gegeben durch die Sequenzpositionen  $25 \rightarrow 27$  ( $\beta_1$ ) und  $60 \leftarrow 62$  ( $\beta_2$ ). Die Helix  $\alpha_2$  geht von der  $3, 6_{13}$ -Standargeometrie der NH2-terminalen ersten beiden Windungen in eine 310-Geometrie der COOHterminalen dritten Windung über. Die amphipatische COOH-terminale Helix  $\alpha_5$  (Reste 74-84) packt in die von den Helices  $\alpha_1$  und  $\alpha_2$  gebildete hydrophobe Furche. Ebenfalls dargestellt sind in Kugelund-Stäbchen-Darstellung die schweren Atome der die beiden als graue Kugeln dargestellten Calciumionen komplexierenden Seitenketten von Asp 19 (O $\delta$ 1, Ligandenposition x), Asn 21 (O $\delta$ 1, y), Asp 23 (Oδ1, z) und Glu 30 (Oε1 und Oε2, -z) bzw. Asp 54 (Oδ1, x), Asp 56 (Oδ1, y), Asp 58 (Oδ1, z) und Glu 30 (O $\epsilon$ 1 und O $\epsilon$ 2, -z) sowie Carbonylgruppen von Lys 25 (O, -y) bzw. Phe 60 (O, -y), außerdem die schweren Atome der Seitenketten von Ser 27 und Ser 62, deren Hydroxylgruppen durch Wasserstoffbrücken mit dem Amidprotonen von Glu 30 bzw. Glu 65 wie bei vielen anderen EF-Hand-Proteinen (zusammengefasst in Strynadka und James 1989) vermutlich als klassische N-Caps (Fersht 1998, Abschnitt 17.D.1.a) der Helices  $\alpha_2$  bzw.  $\alpha_4$  dienen (bei Ser 62 im Gegensatz zu Ser 27 auf Grund experimenteller Unterbestimmung nicht eindeutig zu erkennen) und deren außergewöhnlich langsam mit den Protonen des Lösungsmittels austauschende Hydroxylprotonen zudem als Wasserstoffbrückendonoren an der Stabilisierung der Bindung von Wassermolekülen an der jeweils benachbarten noch freien Ligandenposition -x beteiligt sein könnten. Deren C-Atome sind anthrazit farbcodiert, die N-Atome blau und die O-Atome rot.



Abb. 4.35 Ramachandran-Plot der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf eine Berücksichtigung der übrigen 24 akzeptierten Strukturen verzichtet. Glycine werden durch ein schwarzes Dreieck symbolisiert, alle anderen Reste durch ein schwarzes Quadrat. Die in Strukturdatenbanken besonders häufig anzutreffenden Proteinrückgrat-Konformationen A, B und L sind rot eingefärbt; die Region A ist dabei typisch für  $\alpha$ -Helices und die Region B für  $\beta$ -Faltblattstränge. Etwas seltenere Konformationen sind gelb eingefärbt, sehr seltene blassgelb. Alle anderen Konformationen sind sterisch extrem ungünstig und werden daher fast nie beobachtet. Alle Aminosäuren dieser Struktur nehmen eine sterisch günstige Konformation an, wobei die sehr flexiblen Glycin-Residuen nicht bewertet wurden.

Die Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung mit dipolaren Kopplungskonstanten erfüllt die 61 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  mit  $S_{RSDM} \ge 0.90$  (Abschnitt 4.7.2.4) mit einer Streuung von 0,19 Hz um die berechneten Werte entsprechend einem Qualitätsfaktor (Abschnitt 3.1.5.4.1) von Q = 1,5% (Abb. 4.36). Die bei dem zu Grunde liegenden linearen Least-Squares-Fit (Abschnitt 3.1.5.4.1) bestimmte Anisotropie  $D_a = -12,69 Hz$  und Rhombizität R = 0,37 des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  stimmt exakt mit den wahren Werten von  $D_a = -12,7 Hz$ und R = 0,37 (Abschnitt 3.1.5.4.2) überein.



Abb. 4.36 Gemessene dipolare Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  in Abhängigkeit vom Polarwinkel  $\theta$  im Hauptachsensystem des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  (oben) und von der nach (3.13) berechneten dipolaren Kopplungskonstante  $D_{calc}$  (Mitte) sowie Differenzen zwischen gemessenen und berechneten dipolaren Kopplungskonstanten für die einzelnen Aminosäuren (unten) der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung mit dipolaren Kopplungskonstanten. Der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  wurde wie in Abschnitt 3.1.5.4.1 beschrieben durch einen linearen Least-Squares-Fit seiner 5 Komponenten in der irreduziblen sphärischen Darstellung bestimmt, woraus sich  $D_a = -12,69 Hz$  und R = 0,37ergibt. Die durchgezogene Linie im oberen Teil stellt den berechneten Wert  $D_a((3\cos^2 \theta - 1) - \frac{3}{2}R\sin^2 \theta)$  dar, den man aus (3.13) für den Fall  $\phi = 90^\circ$  erhält.

Aus der in Abb. 4.37 dargestellten Aufschlüsselung der in Tab. 4.8 angegebenen Standardabweichungen der Atomkoordinaten der 25 akzeptierten Strukturen von denen der mittleren Struktur nach der Position in der Aminosäuresequenz geht hervor, dass der NH<sub>2</sub>-Terminus von Ala 1 bis His 4 sehr schlecht definiert ist (vgl. Abb. 4.33). Der Grund dafür ist das Fehlen einer ausreichenden Zahl an experimentellen Randbedingungen bedingt durch eine signifikant erhöhte interne Flexibilität des Proteinrückgrats, wie die Relaxationsdaten (Eisenmann 2001, Abschnitt 4.4; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung) zeigen (Abb. 4.37). Auch die die beiden EF-Hände verbindende Schleife zwischen den Helices  $\alpha_2$ und  $\alpha_3$  von Gly 39 bis Thr 42 sowie die COOH-terminale Helix  $\alpha_5$  sind experimentell nicht ganz so gut definiert wie der Kern des Proteins, was ebenfalls mit einer relativ niedrigen Zahl insbesondere an langreichweitigen Abstandsbeschränkungen als Folge einer aus den Relaxationsdaten ablesbaren leicht erhöhten internen Flexibilität des Proteinrückgrats korreliert (Abb. 4.37).

Abb. 4.37 zeigt außerdem, dass besonders viele der in die Berechnung der Strukturen eingegangenen Abstandsbeschränkungen auf NOE-Kreuzresonanzen von Aminosäuren mit aromatischen Seitenketten basieren, was im Wesentlichen die Tatsache widerspiegelt, dass neben dem 3D-<sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-NOESY-HSQC auch das 2D-NOESY in D<sub>2</sub>O eine wichtige Quelle für NOE-Kreuzresonanzen darstellte. Die große Anzahl der darunter befindlichen langreichweitigen NOEs, die für eine gut definierte Struktur besonders wertvoll sind, unterstreicht die Bedeutung dieses Experimentes für die Qualität der erhaltenen Strukturen.

Abb. 4.37 Atomare Standardabweichungen von der mittleren Struktur (oben), Anzahl der für die Strukturberechnung verwendeten NOEs (Mitte) und exemplarisch für die bekannten Relaxationsdaten (Eisenmann 2001; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung) die bei einer Resonanzfrequenz der <sup>1</sup>H-Kerne von 600 MHz gemessenen heteronuklearen {<sup>1</sup>H} <sup>15</sup>N-NOEs mit Fehlerbalken (unten) für die einzelnen Aminosäuren. Die Standardabweichungen des Proteinrückgrats sind mit Kreisen eingetragen, die der schweren Atome der Seitenketten mit Dreiecken. Im mittleren Diagramm ist erkennbar, dass für den NH<sub>2</sub>-Terminus von Ala 1 bis His 4 kaum Abstandsbeschränkungen aus den NOESY-Spektren gewonnen werden konnten, was zu der im oberen Teil sichtbaren auffällig hohen Schwankung dieses Bereichs führt. Bei den Resten mit den meisten Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen handelt es sich vorwiegend um Reste mit aromatischen Seitenketten wie Phe 15, Phe 60 und Phe 63. Hohe Standardabweichungen sind meist die Folge einer geringen Anzahl insbesondere an langreichweitigen NOEs auf Grund einer sich in niedrigen Werten des {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs widerspiegelnden erhöhten internen Flexibilität des Proteinrückgrats.




Sequenzposition

Abb. 4.38 NOE-Kontaktkarte. Eine Raute in diesem Diagramm bedeutet, dass für die Strukturberechnung wenigstens eine Abstandsbeschränkung verwendet wurde, die auf einer NOE-Kreuzresonanz zwischen je einem Atom der entsprechenden Reste basiert. Diese Art der Darstellung ist per definitionem symmetrisch bezüglich der Diagonalen. In  $\alpha$ -helikalen Bereichen beobachtet man viele mittelreichweitige NOEs (vgl. Abb. 4.32), die sich in Form von im Abstand von zwei bis vier Sequenzpositionen parallel zur Diagonalen angeordneten Ketten von Rauten niederschlagen, wodurch die fünf  $\alpha$ -Helices von holo Bet v 4 leicht zu identifizieren sind. Die NOEs zwischen den benachbarten antiparallelen Faltblattsträngen  $\beta_1$  von Lys 25 bis Ser 27 und  $\beta_2$  von Phe 60 bis Ser 62 führen zu einer senkrecht zur Diagonalen verlaufenden Serie von Rauten. Besonders auffällig ist das auf Grund des gleichen Bauprinzips in beiden EF-Händen sehr ähnliche Muster der beiden Calciumbindungsschleifen von Asp 19 bis Glu 30 bzw. von Asp 54 bis Glu 65. Das Rechteck enthält die die Lage der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  festlegenden langreichweitigen NOEs; betrachtet man die beteiligten Aminosäuren genauer, dann stellt man fest, dass es sich vorwiegend um Aromaten handelt (Phe 18, Phe 69 und Phe 84).

Anhand der in Abb. 4.38 dargestellten NOE-Kontaktkarte lässt sich dieser Punkt noch etwas genauer analysieren. Eine Betrachtung der Struktur von holo Bet v 4 (Abb. 4.34) macht deutlich, dass eine der wesentlichen Aufgaben bei der Strukturbestimmung darin bestand, eine hinreichend große Zahl von langreichweitigen NOE-Kreuzresonanzen zu finden, die die durch die nur 9 dipolaren Kopplungskonstanten mit  $S_{RSDM} \ge 0.90$  in diesem Bereich (Anhang 10.5.3.6) lediglich grob definierte Orientierung der amphipatischen COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  relativ zu den beiden EF-Händen exakt festlegen. Die Wechselwirkung zwischen dieser Helix und dem Rest des Proteins beruht vor allem darauf, dass ihre von den Seitenketten von Leu 76, Leu 77, Val 80, Ala 81, Ile 83 und Phe 84 gebildete hydrophobe Seite auf die von den Seitenketten von Ile 14, Phe 18, Ile 26, Leu 31, Ala 34, Leu 35, Leu 38, Ile 41, Met 49, Ile 53, Ile 61, Phe 66 und Phe 69 der beiden EF-Hände gebildete hydrophobe Furche packt. Da alle 11 langreichweitigen Abstandsbeschränkungen zwischen Protonen der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  einerseits und der beiden EF-Hände andererseits daher ausschließlich Seitenkettenprotonen betreffen, wurde diese Aufgabe aus den in Abschnitt 3.1.5.1 dargelegten Gründen vorwiegend von den NOE-Kreuzresonanzen unter Beteiligung der aromatischen Seitenketten von Phe 18, Phe 69 und Phe 84 im 2D-NOESY in D<sub>2</sub>O mit insgesamt 9 Abstandsbeschränkungen erfüllt (Anhang 10.5.3.3), wie auch die NOE-Kontaktkarte zeigt.

Die COOH-terminale Helix  $\alpha_5$  deckt diese hydrophobe Furche jedoch nicht vollständig ab (Abb. 4.39). Eine Betrachtung des durch Lösung der Poisson-Boltzmann-Differentialgleichung (Leach 2001, Abschnitt 11.10.4) mit Hilfe des Programms GRASP 1.2 (Nicholls et al. 1991) erhaltenen elektrostatischen Potentials der Moleküloberfläche zeigt, dass die Lage und Orientierung der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  durch einen zu ihrem durch die Seitenketten von Arg 74, Lys 78 und Lys 82 gebildeten positiv geladenen Rücken komplementären durch die Seitenketten von Asp 2, Asp 3, Asp 7 und Glu 10 gebildeten negativ geladenen Rücken der NH<sub>2</sub>-terminalen Helix  $\alpha_1$  stabilisiert wird. Die hydrophobe Furche wird von den drei negativ geladenen Seitenketten von Glu 45, Glu 52 und Asp 69 gesäumt. Der Ladungszustand der ebenfalls am Rand der hydrophoben Furche befindlichen Seitenkette von His 48 hängt vermutlich stark vom pH-Wert ab, da die Säurekonstante des Imidazolrings eines Histidins fast immer im Bereich  $5 \le pK_a \le 8$  liegt (Fersht 1998, Abschnitt 5.A); die bei den verschiedenen Proben von holo Bet v 4 bei pH = 6.0 (Abschnitt 3.1.1), selbst bei der Probe Bet v 4 D in D<sub>2</sub>O bei einem auf Grund des Isotopeneffekts bei der pH-Messung zu erwartenden Wert von  $pD \approx 6.4$  (Glasoe und Long 1960), recht gut reproduzierbaren chemischen Verschiebungen der Imidazolringprotonen H $\delta$ 2 und H $\epsilon$ 1 von His 48 von 7,25 ppm bzw. 8,37 ppm (Anhang 10.1.3) lassen vermuten, dass der Imidazolring von His 48 unter den gewählten Pufferbedingungen weitgehend protoniert und damit positiv geladen vorliegt (Bundi und Wüthrich 1979), d. h.  $pK_a \ge 6.4$ , was durch eine Salzbrücke mit der räumlich unmittelbar benachbarten Carboxylatgruppe von Glu 52 eine Helixwindung weiter stabilisiert werden dürfte.



Abb. 4.39 Connolly-Moleküloberfläche (Connolly 1986) der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion *E* pot von holo Bet v 4 eingefärbt nach Hydrophobizität (oben; hydrophobe Reste grün, hydrophobe Reste blau) bzw. elektrostatischem Potential (unten; negatives Potential rot, positives Potential blau). Die Ansicht zeigt die der in Abb. 4.33 und 4.34 gezeigten gegenüberliegende Seite. Als Orientierungshilfe ist auch das Proteinrückgrat mit dargestellt (oben; gelb). Der Ladungszustand der Seitenkette von His 48 hängt vermutlich vom pH-Wert ab.



Abb. 4.40 Hauptachsensysteme des Rotationsdiffusionstensors (blau) und des Trägheitstensors (weiß) der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 (gelb). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 4.33 und Abb. 4.34. Die Länge der Achsen ist ein Maß für die Größe der zugehörigen Eigenwerte. Ebenfalls dargestellt sind die Winkel zwischen den jeweils zusammengehörigen Hauptachsen (da die Rotationsdiffusion mit zunehmendem Trägheitsmoment abnimmt, gehört der kleinste Wert des Rotationsdiffusionstensors zum größten Wert des Trägheitstensors und umgekehrt) sowie das dem Rotationsdiffusionstensor entsprechende Ellipsoid.

Die experimentelle Bestimmung der Tertiärstruktur von holo Bet v 4 ermöglicht eine Neuberechnung des bisher nur anhand eines auf der Basis von Calmodulin erstellten Homologiemodells berechneten Rotationsdiffusionstensors aus den Verhältnissen zwischen den longitudinalen und transversalen Relaxationszeiten der Amidstickstoffatome (Eisenmann 2001, Abschnitt 4.5) mit dem Programm Tensor 2.0 (Dosset et al. 2000). Bei Nichtberücksichtigung der gemessenen Relaxationsdaten für die Amidstickstoffatome von His 4, Gln 6, Glu 10, Phe 18, Leu 38 bis Thr 42, Gly 70 und Asn 73 bis Phe 84 wegen ihrer durch Werte des bei einer Resonanzfrequenz der <sup>1</sup>H-Kerne von 600 *MHz* gemessenen heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs von unter 0,74 angezeigten signifikant erhöhten internen Flexibilität des Proteinrückgrats und/oder ihres durch ungewöhnlich kurze transversale Relaxationszeiten angezeigten konformationellen Austauschs (Pawley et al. 2001) erhält man anhand der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 den in Abb. 4.40 dargestellten Rotationsdiffusionstensor mit den Eigenwerten  $D_{xx} = 2,67 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$ ,  $D_{yy} = 2,84 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$  und  $D_{zz} = 3,26 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$ , dessen Orientierung hervorragend mit der des sich aus der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 ergebenden Trägheitstensors mit den relativen Eigenwerten  $I_{yy}=0.90I_{xx}$  und  $I_{zz}=0.62I_{xx}$  übereinstimmt (Abb. 4.40). Da die Eigenwerte  $D_{xx}$  und  $D_{yy}$  bzw.  $I_{xx}$  und  $I_{yy}$  relativ ähnlich sind, stellt die Annahme eines prolat axialsymmetrischen Rotationsdiffusionstensors bzw. oblat axialsymmetrischen Trägheitstensors offensichtlich eine recht brauchbare Näherung dar. Die sich aus diesen Eigenwerten des Rotationsdiffusionstensors ergebenden Autokorrelationszeiten für die Rotationsdiffusion (Woessner 1962) sind in Tab. 4.9 für die verschiedenen Symmetrien angegeben. Diese Autokorrelationszeiten stimmen gut mit dem Mittelwert der Autokorrelationszeiten aus dem RSDM von 5,74 *ns* bei einer Standardabweichung von 0,38 *ns* überein, wenn man auch bei der Bildung dieses Mittelwerts die gemessenen Relaxationsdaten für die Amidstickstoffatome von His 4, Gln 6, Glu 10, Phe 18, Leu 38 bis Thr 42, Gly 70 und Asn 73 bis Phe 84 nicht berücksichtigt (Eisenmann 2001, Abschnitt 4.4; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung).

Symmetrie	Eigenwerte	Autokorrelationszeiten	
asymmetrisch		$\tau_1 = \frac{1}{4 D_{xx} + D_{yy} + D_{zz}} = 6,0  ns$	
	$D_{zz} = 3,26 \cdot 10^7 \frac{1}{2}$	$\tau_2 = \frac{1}{D_{xx} + 4 D_{yy} + D_{zz}} = 5,8  ns$	
	$D_{yy} = 2,84 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$	$\tau_{3} = \frac{1}{D_{xx} + D_{yy} + 4 D_{zz}} = 5,4 \ ns$	
	$D_{xx} = 2,67 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$	$\tau_{+} = \frac{1}{6 D_{iso} + 6 \sqrt{D_{iso}^2 - L^2}} = 5,5 \text{ ns}$	
		$\tau_{-} = \frac{1}{6 D_{iso} - 6 \sqrt{D_{iso}^2 - L^2}} = 5,9  ns$	
prolat axialsymmetrisch	- 1	$\tau_{A} = \frac{1}{6 D_{per}} = 6.1  ns$	
	$D_{par} = D_{zz} = 3,26 \cdot 10^{7} \frac{1}{s}$ $D_{per} = \frac{1}{2} (D_{xx} + D_{yy}) = 2,75 \cdot 10^{7} \frac{1}{s}$	$\tau_B = \frac{1}{5D_{per} + D_{par}} = 5.9  ns$	
		$\tau_{c} = \frac{1}{2 D_{per} + 4 D_{par}} = 5.4 \text{ ns}$	
isotrop	$D_{iso} = \frac{1}{3} (D_{xx} + D_{yy} + D_{zz}) = 2,92 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$	$\tau_m = \frac{1}{6D_{iso}} = 5,7  ns$	

Tab. 4.9 Eigenwerte des Rotationsdiffusionstensors von holo Bet v 4 und sich daraus ergebende Autokorrelationszeiten der Rotationsdiffusion (Woessner 1962) für verschiedene Symmetrien. Dabei bedeutet  $L^2 = \frac{1}{3}(D_{xx} \cdot D_{yy} + D_{xx} \cdot D_{zz} + D_{yy} \cdot D_{zz})$ .

Symmetrie	Eigenwerte	Halbachsen
asymmetrisch	$I_{xx} = 6,94 \cdot 10^5 Da \dot{A}^2 \pm 0,06 \cdot 10^5 Da \dot{A}^2$ $I_{yy} = 10,08 \cdot 10^5 Da \dot{A}^2 \pm 0,13 \cdot 10^5 Da \dot{A}^2$ $I_{zz} = 11,20 \cdot 10^5 Da \dot{A}^2 \pm 0,13 \cdot 10^5 Da \dot{A}^2$	nicht berechnet
prolat axialsymmetrisch	$I_{par} = I_{xx} = 6,94 \cdot 10^5 Da  \mathring{A}^2 = \frac{2}{5} M a^2$ $I_{per} = \frac{1}{2} (I_{yy} + I_{zz}) = 10,64 \cdot 10^5 Da  \mathring{A}^2 = \frac{1}{5} M \left(a^2 + b^2\right)$	a = 13,6  Å b = 19,5  Å
isotrop	$I_{iso} = \frac{1}{3} (I_{xx} + I_{yy} + I_{zz}) = 9,41 \cdot 10^5  Da  \mathring{A}^2 = \frac{2}{5} M  r^2$	r = 15,8  Å

Tab. 4.10 Eigenwerte des Trägheitstensors von holo Bet v 4 und Halbachsen des jeweiligen Ellipsoids mit<br/>homogener Massenverteilung und dem gleichen Trägheitstensor für verschiedene Symmetrien.<br/>Dabei bezeichnet M = 9390,49 Da die bei der Berechnung der Trägheitstensoren verwendete relative<br/>Molekülmasse. Angegeben sind bei den Eigenwerten des asymmetrischen Trägheitstensors die Mittel-<br/>werte über die 25 akzeptierten Strukturen nach dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung. Man<br/>beachte, dass der Trägheitstensor eines prolat axialsymmetrischen Ellipsoids oblat axialsymmetrisch<br/>ist.

Zum Vergleich sind in Tab. 4.10 die wie in Abschnitt 3.3 beschrieben berechneten Eigenwerte des Trägheitstensors angegeben. Die Struktur von holo Bet v 4 lässt sich in grober Näherung als prolates Rotationsellipsoid mit den beiden kurzen Halbachsen a = 13,6 Å und der langen Halbachse b = 19,5 Å ansehen. Der Gyrationsradius (Abschnitt 3.2.3.6) eines solchen Rotationsellipsoids von  $\sqrt{\frac{1}{5}(2 a^2 + b^2)} = 12,2 \text{ Å}$  (van Holde et al. 1998, Abschnitt 7.1) stimmt exakt mit dem Mittelwert der für alle Atome einschließlich der Reste 1 bis 4 der 25 akzeptierten Strukturen berechneten Gyrationsradien von  $R_{gyr} = 12,22 \text{ Å} \pm 0,05 \text{ Å}$  überein.

Auf der Grundlage dieses Modells lassen sich sowohl die Translationsdiffusionseigenschaften als auch die Rotationsdiffusionseigenschaften von holo Bet v 4 theoretisch abschätzen. Die zu diesem Rotationsellipsoid volumengleiche Kugel besitzt einen Radius von  $r_{sph} = \sqrt[3]{a^2 b} = 15,3 \text{ Å}$ . Der Perrin-Formfaktor der Stokes-Reibungskraft bei translativer Bewegung relativ zur volumengleichen Kugel errechnet sich aus dem Verhältnis der Hauptachsen dieses prolaten Rotationsellipsoids  $P \coloneqq \frac{b}{a} = 1,434 \coloneqq \frac{1}{p}$  zu

$$F = \frac{\sqrt{P^2 - 1}}{\sqrt[3]{P} \ln\left(P + \sqrt{(P^2 - 1)}\right)} = 1,012$$
(4.1)

(Perrin 1936; Cantor und Schimmel 1980, Abschnitt 10-2; van Holde et al. 1998, Abschnitt 5.2) und der hydrodynamische Radius daher zu etwa  $r_h^{dehyd} = F \cdot r_{sph} = 1,012 \cdot 15,3 \text{ } \mathring{A} = 15,5 \text{ } \mathring{A}$ . Hinzu kommt jeweils eine Hydrathülle von typischerweise etwa 2,8  $\mathring{A}$  (Cantor und Schimmel 1980, Abschnitt 10-2), woraus man für die Translationsdiffusion einen hydrodynamischen Radius von insgesamt etwa  $r_h^{hyd} = 15,5 \text{ } \mathring{A} + 2,8 \text{ } \mathring{A} = 18,3 \text{ } \mathring{A}$  abschätzt. Für die Vorhersage des Rotationsdiffusionstensors in der prolat axialsymmetrischen Näherung benötigt man die Viskosität  $\eta$  des Lösungsmittels. Bei T = 298 K erhält man unter Vernachlässigung der übrigen Komponenten der NMR-Probe (Eisenmann 2001, Abschnitt 3.6) aus den Werten von  $\eta = 0,890 \cdot 10^{-3} Pa s$  für H<sub>2</sub>O und  $\eta = 1,100 \cdot 10^{-3} Pa s$  für D<sub>2</sub>O (Cho et al. 1999) durch lineare Interpolation den Wert  $\eta = 0,911 \cdot 10^{-3} Pa s$  für 10 % (v/v) D<sub>2</sub>O. Mit

$$S \coloneqq \frac{2P \ln \left(P + \sqrt{(P^2 - 1)}\right)}{\sqrt{P^2 - 1}} = \frac{2\sqrt[3]{P^2}}{F} = 2,514$$
(4.2)

erhält man unter Berücksichtigung der Hydrathülle eine Abschätzung für die Eigenwerte des prolat axialsymmetrischen Diffusionstensors (Perrin 1934; Woessner 1962; Cantor und Schimmel 1980, Abschnitt 10-2)

$$D_{par} = \frac{k_B T \cdot 3(2P^2 - S)}{8\pi \eta (a + 2, 8 \text{ Å})^2 (b + 2, 8 \text{ Å}) \cdot 4(P^2 - 1)} = 3,37 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$$
(4.3)

$$D_{per} = \frac{k_B T \cdot 3 \left( S \left( 2 P^2 - 1 \right) - 2 P^2 \right)}{8 \pi \eta \left( a + 2, 8 \mathring{A} \right)^2 \left( b + 2, 8 \mathring{A} \right) \cdot 4 \left( P^4 - 1 \right)} = 2,56 \cdot 10^7 \frac{1}{s}$$
(4.4)

entsprechend Autokorrelationszeiten der Rotationsdiffusion von  $\tau_A = 6,5 ns$ ,  $\tau_B = 6,2 ns$  und  $\tau_C = 5,4 ns$ , die recht gut mit den aus den Relaxationsdaten bestimmten Werten (Tab. 4.9) übereinstimmen. Eine theoretische Abschätzung auf der Grundlage eines asymmetrischen Ellipsoids ist zwar analytisch durchaus möglich (Perrin 1934; Perrin 1936), die im Vergleich zur Annahme eines prolat axialsymmetrischen Rotationsellipsoids dadurch zu gewinnende Genauigkeit dürfte den weitaus größeren Rechenaufwand bedingt durch die Auswertung der dabei auftretenden elliptischen Integrale jedoch kaum rechtfertigen, da die hydrodynamische Behandlung eines unregelmäßig geformten und zumindest teilweise dynamischen Proteins als starres Ellipsoid an sich bereits eine recht grobe Näherung darstellt.

## 4.7.3.2 Ohne dipolare Kopplungskonstanten berechnete Strukturen

Um den Einfluss der 61 dipolaren Kopplungskonstanten auf die berechneten Strukturen von holo Bet v 4 besser abschätzen zu können, wurden mit den gleichen experimentellen Randbedingungen und dem gleichen Simulated-Annealing-Protokoll wie in Abschnitt 4.7.3.1 90 weitere Strukturen berechnet, dieses Mal allerdings ohne den Potentialterm  $E_{rdc}$ . Davon konvergierten 27 Strukturen, die wiederum weder eine Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,3 Å noch eine systematische Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,15 Å zeigten. Die Strukturparameter sind in Tab. 4.11 zusammengefasst:

Statistik der Moleküld	ynamik-Simulation	
Energien / kcal/mol	E pot	$34,6 \pm 1,6$
	$E_{bonds}$	$2,\!86\pm0,\!15$
	E angles	$11,\!9\pm0,\!8$
	E impropers	$7,\!19\pm0,\!20$
	$E_{VdW}$	$4,4 \pm 0,6$
	E <sub>NOE</sub>	$8,2 \pm 0,6$
	$E_{cdih}$	$0,007 \pm 0,004$
Standardabweichungen von den idealen Abständen / Å	Bindungslängen	$0,00147 \pm 0,00004$
	Abstandsbeschränkungen	$0,\!0105\pm0,\!0004$
Standardabweichungen von den idealen Winkeln / $^{\circ}$	Bindungswinkel	$0,\!181\pm0,\!006$
	Diederwinkel	$0,\!314\pm0,\!004$
	Diederwinkelbeschränkungen	$0,\!014\pm0,\!005$
Standardabweichungen von den idealen chemischen	<sup>13</sup> Cα	$1,\!09\pm0,\!03$
Verschiebungen / ppm	$^{13}C\beta$	$0,\!84\pm0,\!03$
Gyrationsradius der regulären Sekundärstruktur <sup>b</sup> / Å	R <sub>gyr</sub>	$11,\!84 \pm 0,\!03$
Atomare Standardabweichunge	n von der mittleren Struktur	
	Proteinrückgrat	Schwere Atome
Gesamte Struktur <sup>a</sup>	0,49 Å $\pm$ 0,17 Å	0,71 Å $\pm$ 0,11 Å
Reguläre Sekundärstruktur <sup>b</sup>	$0,34 \text{ \AA} \pm 0,12 \text{ \AA}$	0,61 Å $\pm$ 0,08 Å

**ab. 4.11 Zusammenfassung der Strukturberechnung von holo Bet v 4 ohne dipolare Kopplungskonstanten.** Abgesehen von den 61 dipolaren Kopplungskonstanten wurden die gleichen experimentellen Randbedingungen verwendet wie in Tab. 4.8. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die 27 akzeptierten Strukturen nach dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung, abgesehen von den verwendeten experimentellen Randbedingungen.

a Aminosäuren 1 - 84 b Aminosäuren 5 - 84

Interessanterweise sinkt bei diesen 27 Strukturen der Anteil der sterisch besonders bevorzugten  $\Phi - \Psi$ -Konformationen im Vergleich zu den mit dipolaren Kopplungskonstanten berechneten Strukturen, und zwar auf 93,3 %; insgesamt 100,0 % der Residuen nehmen sterisch günstige Konformationen an. Dies entspricht in etwa einer Kristallstruktur, der Röntgenbeugungsdaten mit einer Auflösung von 1,0 Å zugrunde liegen. Aus sterischen Gründen verbotene Konformationen werden in keinem einzigen Fall beobachtet. Ein Vergleich der mittleren Struktur der 27 ohne dipolare Kopplungskonstanten berechneten Strukturen mit der mittleren Struktur der 25 mit dipolaren Kopplungskonstanten berechneten Strukturen liefert eine Standardabweichung der Atomkoordinaten von 0,61 Å für das Proteinrückgrat und von 0,72 Å für alle schweren Atome. Der wesentliche Unterschied zwischen diesen beiden Sätzen von Strukturen liegt in der genauen Orientierung der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$ , denn die Standardabweichung der Atomkoordinaten der mittleren Strukturen sinkt auf 0,36 Å für das Proteinrückgrat und 0,48 Å für alle schweren Atome, wenn man nur die Reste 1 bis 72 berücksichtigt, was in etwa den Standardabweichungen der einzelnen Strukturen von der jeweiligen mittleren Struktur entspricht (vgl. Tab. 4.8 und Tab. 4.11).

Die Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung ohne dipolaren Kopplungskonstanten erfüllt die 61 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  mit  $S_{RSDM} \ge 0,90$  (Abschnitt 4.7.2.4) mit einer Streuung von 3,82 Hz um die berechneten Werte entsprechend einem Qualitätsfaktor (Abschnitt 3.1.5.4.1) von Q = 31,4% (Abb. 4.41). Die bei dem zu Grunde liegenden linearen Least-Squares-Fit (Abschnitt 3.1.5.4.1) bestimmte Anisotropie  $D_a = -11,49$  Hz und Rhombizität R = 0,44 des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  stimmt einigermaßen mit den wahren Werten von  $D_a = -12,7$  Hz und R = 0,37 (Abschnitt 3.1.5.4.2) überein.



Abb. 4.41 Gemessene dipolare Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  in Abhängigkeit vom Polarwinkel  $\theta$  im Hauptachsensystem des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  (oben) und von der nach (3.13) berechneten dipolaren Kopplungskonstante  $D_{calc}$  (Mitte) sowie Differenzen zwischen gemessenen und berechneten dipolaren Kopplungskonstanten für die einzelnen Aminosäuren (unten) der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung ohne dipolare Kopplungskonstanten. Der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  wurde wie in Abschnitt 3.1.5.4.1 beschrieben durch einen linearen Least-Squares-Fit seiner 5 Komponenten in der irreduziblen sphärischen Darstellung bestimmt, woraus sich  $D_a = -11,49 Hz$  und R = 0,44ergibt. Die durchgezogene Linie im oberen Teil stellt den berechneten Wert  $D_a((3\cos^2 \theta - 1) - \frac{3}{2}R\sin^2 \theta)$  dar, den man aus (3.13) für den Fall  $\phi = 90^\circ$  erhält.

### 4.7.3.3 Für die vollständige Kreuzvalidierung berechnete Strukturen

Für die vollständige Kreuzvalidierung wurden die 1442 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen (Abschnitt 4.7.2.1) in 10 etwa gleich große Teilmengen aufgeteilt, die jeweils zwischen 127 und 155 Abstandsbeschränkungen enthielten. Auf der Grundlage von jeweils 9 dieser 10 Teilmengen wurden jeweils 60 Strukturen berechnet, insgesamt also weitere 600 Strukturen; aus jedem der resultierenden 10 Sätze von je 60 Strukturen wurden die 21 Strukturen mit den niedrigsten Werten der Zielfunktion  $E_{pot}$  ausgewählt, wie bereits in Abschnitt 3.3.2 beschrieben. Auch bei diesen 210 Strukturen beobachtet man keine einzige Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,3 Å und keine systematische Verletzung einer Abstandsbeschränkung um mehr als 0,15 Å. Die wichtigsten Strukturparameter sind in Tab. 4.12 aufgeführt.

99,8 % der Reste der für die vollständige Kreuzvalidierung herangezogenen 210 Strukturen zeigen häufig auftretende Proteinrückgrat-Konformationen, davon 94,1 % besonders häufig auftretende, was bei Kristallstrukturen ungefähr einer Auflösung von 1,0 Å entspricht. Eine sterisch extrem ungünstige Konformation wird in keinem einzigen Fall angenommen. Vergleicht man die mittlere Struktur dieser 210 Strukturen mit der der 25 Strukturen aus Abschnitt 4.7.3.1, so erhält man Standardabweichungen von 0,14 Å und 0,18 Å für die Koordinaten der Atome des Proteinrückgrats bzw. die Koordinaten aller schweren Atome.

Bei der Berechnung der Standardabweichungen von den jeweils nicht berücksichtigten 10 % der Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen trat wie schon bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001a) noch ein Problem auf: Die stereospezifische Zuordnung der Resonanzen prochiraler Gruppen erfolgte wie in Abschnitt 3.2.4 beschrieben bei allen Strukturberechnungen indirekt, indem während der Moleküldynamik-Simulation aus den möglichen Zuordnungen diejenige mit dem kleinsten Wert des Potentialterms  $E_{NOE}$  ausgewählt wurde (Holak et al. 1989). Daher mussten die 210 ausgewählten Strukturen daraufhin untersucht werden, inwieweit die Erfüllung der jeweils nicht berücksichtigten Abstandsbeschränkungen durch eine Änderung der Zuordnung prochiraler Gruppen verbessert werden kann. Dabei ist jedoch darauf zu achten, dass durch die berücksichtigten Abstandsbeschränkungen bereits eindeutig festgelegte Zuordnungen nicht mehr geändert werden. Zu diesem Zweck wurde bei dieser Untersuchung der Beitrag der berücksichtigten, um ihm eine höhere Priorität zuzuweisen. Die Standardabweichung von den jeweils nicht berücksichtigten, Abstandsbeschränkungen ergibt sich dann zu  $0.18 \text{ Å} \pm 0.06 \text{ Å}$ .

Statistik der Moleküldynamik-Simulation			
Energien / kcal/mol	E pot	$50,9 \pm 3,4$	
	E bonds	$3,8 \pm 0,3$	
	E angles	$19,2 \pm 1,6$	
	E impropers	$8,5 \pm 0,4$	
	$E_{VdW}$	$5,2\pm0,9$	
	$E_{NOE}$	$11,8 \pm 1,1$	
	$E_{cdih}$	$\textbf{0,0008} \pm \textbf{0,0020}$	
	$E_{rdc}$	$2,3 \pm 0,4$	
Standardabweichungen von den idealen Abständen / Å	Bindungslängen	$0,\!00170\pm0,\!00006$	
	Abstandsbeschränkungen	$0,\!0133 \pm 0,\!0006$	
Standardabweichungen von den idealen Winkeln / $^{\circ}$	Bindungswinkel	$0,\!230\pm0,\!010$	
	Diederwinkel	$0,333 \pm 0,006$	
	Diederwinkelbeschränkungen	$0,003 \pm 0,004$	
Standardabweichungen von den idealen dipolaren Kopplungskonstanten / Hz		$0,\!194\pm0,\!015$	
Standardabweichungen von den idealen chemischen	<sup>13</sup> Cα	$1,\!16\pm0,\!03$	
Verschiebungen / ppm	<sup>13</sup> Cβ	$0,84 \pm 0,03$	
Gyrationsradius der regulären Sekundärstruktur <sup>b</sup> / Å	R <sub>gyr</sub>	$11,\!79\pm0,\!03$	
Atomare Standardabweichungen von der mittleren Struktur			
	Proteinrückgrat	Schwere Atome	
Gesamte Struktur <sup>a</sup>	0,54 Å $\pm$ 0,19 Å	0,82 Å $\pm$ 0,15 Å	
Reguläre Sekundärstruktur <sup>b</sup>	0,31 Å ± 0,08 Å	$0,68 \text{ Å} \pm 0,09 \text{ Å}$	

 

 Tab. 4.12 Zusammenfassung der Strukturberechnung von holo Bet v 4 für die vollständige Kreuzvalidierung. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die 210 ausgewählten Strukturen nach dem Muster Mittelwert ± Standardabweichung.

a Aminosäuren 1 - 84

b Aminosäuren 5 - 84

Um die Qualitätsverbesserung gegenüber den im Rahmen der Dissertation von J. Nerkamp (2002) berechneten Strukturen von holo Bet v 4 quantifizieren zu können, wurde auch für diese eine vollständige Kreuzvalidierung durchgeführt. Dafür wurden die 737 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.4.5) in 10 etwa gleich große Teilmengen aufgeteilt, die jeweils zwischen 63 und 85 Abstandsbeschränkungen enthielten. Auf der Grundlage von jeweils 9 dieser 10 Teilmengen wurden ebenfalls jeweils 60 Strukturen berechnet, insgesamt also weitere 600 Strukturen; aus jedem der resultierenden 10 Sätze von je 60 Strukturen wurden die 20 Strukturen mit den niedrigsten Werten der Zielfunktion  $E_{pot}$  ausgewählt, wie bereits in Abschnitt 3.3.2 beschrieben. Wenn bei der indirekten stereospezifischen Zuordnung der Resonanzen prochiraler Gruppen wiederum der Beitrag der berücksichtigten Abstandsbeschränkungen zu  $E_{NOE}$  zehnmal so stark gewichtet wird wie der

### 4.7.4 Untersuchung der Bindung von Calcium an Bet v 4

Die Reaktion von apo Bet v 4 auf Zugabe von CaCl<sub>2</sub> im Überschuss wurde wie in Abschnitt 3.1.5.7 beschrieben sowohl anhand von 1D-1H-NMR-Spektren (Abb. 4.42) als auch anhand von <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektren (Abb. 4.25 und Abb. 4.43) verfolgt. Die Spektren von einfach markiertem apo Bet v 4 sind nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> im Überschuss so gut wie identisch mit denen des für die Strukturbestimmung verwendeten doppelt markierten holo Bet v 4 und zeigen generell eine deutlich bessere Dispersion und homogenere Linienbreiten als die von einfach markiertem apo Bet v 4 ohne CaCl<sub>2</sub>. Besonders auffällig ist die starke Verschiebung der Amidprotonenresonanzen der allesamt in den beiden Calciumbindungsschleifen liegenden Reste Gly 24, Ile 26, Ile 27, Gly 59, Ile 61, Ser 62 und Phe 63 hin zu tiefem Feld bei Zugabe von CaCl<sub>2</sub> im Überschuss, die bereits im 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum deutlich zu erkennen ist (Abb. 4.42). Bei Aufheizen auf T = 333 K zeigen sich zwar deutliche, aber vollständig reversible Temperaturverschiebungen der Amidresonanzen, in der Regel in Richtung der chemischen Verschiebungen in unstrukturierten Peptiden, allerdings beobachtet man keine dramatische Veränderung der Spektren (Abb. 4.25 und Abb. 4.42). Nach erneuter Abkühlung auf T = 298 K sind die <sup>1</sup>H-Resonanzen geringfügig breiter als vor dem Aufheizen, eine deutliche Zunahme der Intensität der für die holo-Form typischen <sup>1</sup>H-Resonanzen, die auf eine Beschleunigung des möglicherweise noch unvollständigen Einbaus der Calciumionen in das Protein durch das Aufheizen hätte hinweisen können, konnte jedoch nicht beobachtet werden (Abb. 4.42).



4. Experimente und Ergebnisse

Abb. 4.42 Überlagerung der 1D-<sup>1</sup>H-Spektren von (von unten nach oben) einfach markiertem apo Bet v 4 ohne CaCl<sub>2</sub>, nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> im Überschuss bei T = 298 K, nach Aufheizen auf T = 333 K, nach erneuter Abkühlung auf T = 298 K sowie zum Vergleich von doppelt markiertem holo Bet v 4 bei T = 298 K. Besonders gut erkennbar ist die Verschiebung hin zu tiefem Feld der Amidprotonenresonanzen von Gly 24 auf 10,53 *ppm*, von Gly 59 auf 10,13 *ppm*, von Ile 61 auf 9,78 *ppm*, von Ser 62 auf 9,72 *ppm*, von Ile 26 auf 9,63 *ppm*, von Ser 27 auf 9,47 *ppm* und von Phe 63 auf 9,45 *ppm* bei Calciumbindung, außerdem die Verschiebung hin zu hohem Feld der Deltaaromatenringprotonenresonanzen von Phe 63 auf 6,45 *ppm*, der Deltamethylgruppenresonanzen von Ile 26 auf 0,21 *ppm* und von Ile 53 auf 0,20 *ppm* und einer der beiden wegen ihrer breiten Multiplettstruktur sehr schwachen Protonenresonanzen der Methylengruppe von Ile 53 auf -0,41 ppm. Ebenfalls deutlich sichtbar ist die Resonanz des langsam mit dem Lösungsmittel austauschenden Hydroxylprotons von Ser 27 bei 5,88 *ppm*. Beim Vergleich mit dem 1D-<sup>1</sup>H-Spektrum von doppelt markiertem holo Bet v 4 ist die fast doppelt so hohe Auflösung wegen der höheren Feldstärke und die Aufspaltung der Aromatenringprotonenresonanzen wegen der unvollständigen heteronuklearen Breitband-<sup>13</sup>C-Composite-Pulse-Entkopplung (Abschnitt 3.1.3) zu beachten.



**Abb. 4.43** <sup>1</sup>**H**,<sup>15</sup>**N-HSQC-Spektrum von einfach markiertem apo Bet v 4.** Blau dargestellte Signale sind in der <sup>15</sup>N-Dimension F1 gefaltet. Die Dispersion der Amidresonanzen ist deutlich schlechter als bei holo Bet v 4 (Abb. 4.25) und die Linienbreite der Resonanzen deutlich inhomogener.

### 4.7.5 Hydrodynamische Radien aus der Translationsdiffusion

Abb. 4.44 zeigt beispielhaft die Abnahme der integrierten Intensitäten der <sup>1</sup>H-Resonanzen mit der relativen Gradientenstärke  $G_{rel}$  in jeweils einem der jeweils fünf wie in Abschnitt 3.1.5.8

beschrieben durchgeführten Messungen an holo Bet v 4 bzw. apo Bet v 4. Die sich aus der Auswertung jeweils aller fünf unabhängigen Messungen ergebenden hydrodynamischen Radien und Kompaktheitsgrade sind in Tab. 4.13 zusammengefasst. Diesen Kompaktheitsgraden liegen die nach (3.19) bzw. (3.20) abgeschätzen Werte von  $r_h^{nat} = 17,2 \text{ Å} \pm 2,3 \text{ Å}$  und  $r_h^{denat} = 27.6 \text{ \AA} \pm 3.1 \text{ \AA}$  für den hydrodynamischen Radius eines nativen bzw. denaturierten Proteins bestehend aus N = 84 Aminosäuren zu Grunde. Der gemessene hydrodynamische Radius von holo Bet v 4 stimmt recht gut mit dem aus der Struktur abgeschätzen hydrodynamischen Radius von  $r_h^{hyd} = 18,3 \text{ Å}$  (Abschnitt 4.7.3) überein. Der hydrodynamische Radius von apo Bet v 4 ist größer als der des sehr kompakten holo Bet v 4. Eine detaillierte Betrachtung der 1D-<sup>1</sup>H-PG-SLED-NMR-Spektren zeigte allerdings, dass die für die holo Bet v 4 typische <sup>1</sup>H-Resonanz der Deltaaromatenringprotonen von Phe 63 bei 6,45 ppm (vgl. Abb. 4.42) auch bei apo Bet v 4 schwach sichtbar war. Da wegen ihrer störenden <sup>1</sup>H-Resonanzen in der Nähe der <sup>1</sup>H-Resonanz von Dioxan und der hohen Kosten für entsprechend deuterierte Substanzen auf die Anwesenheit von EDTA und EGTA in der NMR-Probe selbst verzichtet wurde (Abschnitt 3.1.5.8), genügte die geringfüge nach der Dialyse gegen EDTA noch vorhandene und/oder aus einer Kontamination des Puffers und/oder des NMR-Probenröhrchens resultierende Konzentration an Calciumionen also ganz offensichtlich für einen geringen Anteil an holo Bet v 4 in dieser Probe, so dass die in Tab. 4.13 angegebenen Werte für den hydrodynamischen Radius und den Kompaktheitsgrad von apo Bet v 4 als Unter- bzw. Obergrenze betrachtet werden sollten.

	$rac{d_{ref}}{d_{protein}}$	$r_h^{protein}$	С
holo Bet v 4	$8,\!414\pm0,\!010$	17,8 Å $\pm$ 0,4 Å	$94~\%\pm21~\%$
apo Bet v 4	$8,918 \pm 0,016$	$18,9 \text{ Å} \pm 0,4 \text{ Å}$	84 % ± 20 %

 Tab. 4.13 Hydrodynamische Radien und Kompaktheitsgrade von holo Bet v 4 und apo Bet v4. Angegeben sind die Werte jeweils nach dem Muster Mittelwert ± Standardfehler.



Abb. 4.44 Abnahme der integrierten Intensität der <sup>1</sup>H-Resonanzen von Dioxan (Kreise) und Protein (Sterne) mit der relativen Gradientenstärke G<sub>rel</sub> bei holo Bet v 4 (oben) und apo Bet v 4 (unten). Die durchgezogenen Kurven stellen die Ergebnisse der wie in Abschnitt 3.1.5.8 beschrieben durchgeführten nichtlinearen 2- bzw. 3-Parameter-Fits dar.



### 4.7.6 Vergleich der Strukturen von holo Bet v 4 und holo Phl p 7

Abb. 4.45 Überlagerung der Proteinrückgrate der mittleren Struktur von holo Bet v 4 in Lösung (gelb) mit der NH<sub>2</sub>-terminalen EF-Hand des Monomers A (grün) und der COOH-terminalen EF-Hand des Monomers B (türkis) der Kristallstruktur von holo Phl p 7. Zwischen den beiden Proteinen sind trotz des unterschiedlichen Oligomerisierungszustands kaum Unterschiede in der Faltung zu erkennen, mit Ausnahme der vier die Helices α<sub>2</sub> und α<sub>3</sub> verbindenden Reste.

Die vor kurzem bestimmte Kristallstruktur von holo Phl p 7 (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U), das mit Bet v 4 eine Sequenzidentität von immerhin 68,8 % aufweist (Abb. 1.9), zeigte wie bereits in Abschnitt 1.2.4 erwähnt eine völlig unerwartete dimere Quartärstruktur, bei der die Paarung der beiden EF-Hände intermolekular stattfindet und nicht intramolekular wie beispielsweise bei Parvalbumin, Calmodulin, Troponin C oder Calbindin D<sub>9k</sub> (Abschnitt 4.7.7) und natürlich auch Bet v 4 (Abb. 4.34). Die in Abb. 4.45 dargestellte Überlagerung der Proteinrückgrate der mittleren Struktur von holo Bet v 4 in Lösung (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) mit der NH<sub>2</sub>-terminalen EF-Hand des Monomers A und der COOH-terminalen EF-Hand des Monomers B der Kristallstruktur von holo Phl p 7 (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U) zeigt, dass trotz des unterschiedlichen Oligomerisierungszustands sowohl die Sekundär- als auch die Tertiärstruktur von holo Bet v 4 und holo Phl p 7 mit einer Standardabweichung der Atomkoordinaten der Proteinrückgrate ohne die vier die Helices  $\alpha_2$ und  $\alpha_3$  verbindenden Reste (Abb. 1.9) von lediglich 1,30 Å praktisch identisch sind. Erstaunlicherweise gilt dies nicht nur für die beiden EF-Hände an sich, die jeweils die wohl bekannte gepaarte Anordnung zweier kanonischer EF-Hände in offener Konformation zeigen (Abb. 4.34; Abschnitt 4.7.7), sondern auch für die amphipatische COOH-terminale Helix  $\alpha_5$ , obwohl diese bei holo Phl p 7 durch die dichte intermolekulare Packung der beiden Monomere deformiert wird (Verdino et al. 2002) und obwohl die Bestimmung der Orientierung dieser Helix relativ zu den beiden EF-Händen die größte Herausforderung bei der Strukturbestimmung von holo Bet v 4 darstellte (Abschnitt 4.7.3.1) und völlig unabhängig von der Kristallstruktur von holo Phl p 7 durchgeführt werden musste, da deren Atomkoordinaten damals noch nicht zur Verfügung standen. Die in Abb. 4.39 dargestellte hydrophobe Furche von holo Bet v 4 wird bei holo Phl p 7 durch die Dimerisierung vollständig vom Lösungsmittel abgeschnitten, so dass im Innern des Dimers ein nicht lösungsmittelzugänglicher hydrophober Hohlraum entsteht (Verdino et al. 2002).

# 4.7.7 Vergleich der Struktur von holo Bet v 4 mit bekannten Strukturen anderer EF-Hand-Proteine

Wie in Abschnitt 1.2.4 beschrieben zeigt Bet v 4 eine etwas höhere Sequenzidentität mit EF-Hand-Proteinen mit einer regulatorischen Funktion wie Calmodulin und Troponin C als mit solchen mit einer Ionenspeicherfunktion wie Parvalbumin und Calbindin D<sub>9k</sub> (Abb. 1.10). Dementsprechend lieferte eine Suche nach mit der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion E pot von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung mit dipolaren Kopplungskonstanten (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) strukturell verwandten Proteinen gegen eine nicht aminosäuresequenzredundante Auswahl der in der PDB hinterlegten Proteinstrukturen mit dem Dali-Server (Holm und Sander 1993) eine Reihe von EF-Hand-Proteinstrukturen, von denen Strukturen von holo Troponin C und holo Calmodulin mit Standardabweichungen der C $\alpha$ -Atomkoordinaten von etwa 2 Å oder sogar darunter über gut 70 Aminosäuren entsprechend einem z-Score von etwa 11 die signifikantesten Treffer darstellten. Holo Parvalbumin mit einer ähnlichen Standardabweichung der C $\alpha$ -Atomkoordinaten von 1,9 Å über allerdings nur 66 Aminosäuren entsprechend einem z-Score von 7,4 und apo sowie holo Calbindin D<sub>9k</sub>, wo die Ca<sup>2+</sup>-Bindung wie in Abschnitt 1.2.3 beschrieben eine deutlich geringere Konformationsänderung verursacht als bei EF-Hand-Proteinen mit einer regulatorischen Funktion, mit einer Standardabweichung der C $\alpha$ -Atomkoordinaten von etwa 3 Å über 67 Aminosäuren entsprechend einem z-Score von etwa 7 waren bereits weniger signifikant, und apo Calmodulin erreichte mit einer Standardabweichung der C $\alpha$ -Atomkoordinaten von 3,6 Å über 68 Aminosäuren lediglich einen z-Score von 4,3.

Die in Abb. 4.46 und Abb. 4.47 dargestellten Überlagerungen des Proteinrückgrats der mittleren Struktur von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung mit dipolaren Kopplungskonstanten (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) mit ausgewählten repräsentativen EF-Hand-Proteinstrukturen veranschaulicht die strukturellen Ursachen dieser Hierarchie der Strukturhomologie der EF-Hand-Proteine zu holo Bet v 4 im Kontext ihrer regulatorischen Funktion bzw. Ionenspeicherfunktion. Entscheidend für die Funktion der meisten EF-Hand-Proteine ist wie in Abschnitt 1.2.3 beschrieben die Exposition bzw. Nichtexposition einer hydrophoben Ligandenbindungsstelle auf der Moleküloberfläche, die bei holo Bet v 4 lediglich teilweise durch die amphipatische COOH-terminale Helix  $\alpha_5$  abgedeckt wird (Abb. 4.39) und sich in der in Abb. 4.46 und Abb. 4.47 gewählten Ansicht jeweils auf der Rückseite der Moleküle befindet. Bei EF-Hand-Proteinen mit einer regulatorischen Funktion wie Calmodulin und Troponin C wird diese Exposition durch den Übergang von der durch Winkel zwischen den beiden Helices jeder EF-Hand von etwa 130° (Tab. 4.14) gekennzeichneten geschlossenen Konformation der apo-Form in die durch Winkel zwischen den beiden Helices jeder EF-Hand von etwa 100° (Tab. 4.14) gekennzeichnete offene Konformation der holo-Form verursacht (Abb. 4.46). Die Konformation der beiden EF-Hände von holo Bet v 4 ist absolut typisch für diese offene Konformation (Abb. 4.46; Tab. 4.14). Dementsprechend sind holo Troponin C und holo Calmodulin unter den bisher bekannten Proteinstrukturen die engsten strukturellen Verwandten von holo Bet v 4 (Abb. 4.46 und Abb. 4.47), wenn man holo Phl p 7 einmal außer Acht lässt (Abschnitt 4.7.6), und die im Vergleich zu holo Calmodulin deutlich größere atomare Standardabweichung von apo Calmodulin (Tab. 4.14) ist vor allem eine Folge der unterschiedlichen relativen Orientierung der vier α-Helices der beiden EF-Hände zwischen der geschlossenen und der offenen Konformation (Abb. 4.46). Bei EF-Hand-Proteinen mit einer Ionenspeicherfunktion ist die Exposition einer solchen hydrophoben Ligandenbindungsstelle für ihre physiologische Funktion hingegen nicht notwendig und der hydrophobe Bereich auf der Moleküloberfläche wird daher in der Regel abgedeckt, was durch zwei unterschiedliche Mechanismen erreicht wird: Während sich die beiden Ca<sup>2+</sup>-bindenden EF-Hände von Parvalbumin in der holo-Form in der offenen Konformation befinden (Abb. 4.47; Tab. 4.14) und der hydrophobe Bereich auf der Moleküloberfläche daher durch die zusätzliche NH<sub>2</sub>-terminale EF-Hand mit den beiden α-Helices A und B abgedeckt werden muss (Abb. 4.47), befinden sich die beiden EF-Hände von Calbindin D<sub>9k</sub> auch in der holo-Form in der geschlossenen Konformation (Abb. 4.47; Tab. 4.14), so dass eine leichte Biegung in der COOH-terminalen Helix  $\alpha_4$  für die vollständige Abdeckung des hydrophoben Bereichs auf der Moleküloberfläche ausreicht (grüner Pfeil in Abb. 4.47). Wegen der unterschiedlichen Länge der die beiden EF-Hände, d. h. die beiden Helices  $\alpha_2$  und  $\alpha_3$  verbindenden Schleife (Abb. 1.10) unterscheiden sich zudem alle hier betrachteten EF-Hand-Proteine auch in der Konformation dieser Schleife (Abb. 4.46 und Abb. 4.47). Die Verbindungsschleife der ersten EF-Hand zwischen den Helices  $\alpha_1$  und  $\alpha_2$  von holo Calbindin D<sub>9k</sub> ist außerdem zwei Reste länger als die kanonischer EF-Hände (Abb. 1.10) und zeigt daher auch eine deutlich abweichende Konformation (Abb. 4.47).



Abb. 4.46 Überlagerung der Proteinrückgrate der mittleren Struktur von holo Bet v 4 in Lösung (Abschnitt 4.3.7.1, PDB-Kennung 1H4B; gelb) mit der COOH-terminalen Domäne von apo Calmodulin aus dem Frosch (*Xenopus laevis*; Chou et al. 2000, PDB-Kennung 1F71; Modell 6; blau) und von holo Calmodulin aus dem Menschen (*Homo sapiens*; Chou et al. 2001, PDB-Kennung 1J7P; Modell 2; cyan). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 4.33, Abb. 4.34 und Abb. 4.40.



Abb. 4.47 Überlagerung der Proteinrückgrate der mittleren Struktur von holo Bet v 4 in Lösung (Abschnitt 4.3.7.1, PDB-Kennung 1H4B; gelb) mit der COOH-terminalen Domäne von holo Calmodulin aus dem Menschen (*Homo sapiens*; Chou et al. 2001, PDB-Kennung 1J7P; Modell 2; cyan), der NH<sub>2</sub>-terminalen Domäne von holo Troponin C aus dem Huhn (*Gallus gallus*; Strynadka et al. 1997, PDB-Kennung 1AVS; Monomer B; rot), holo Parvalbumin aus dem Karpfen (*Cyprinus carpio*; Swain et al. 1989, PDB-Kennung 5CPV; weiß) und holo Calbindin D<sub>9k</sub> aus dem Rind (*Bos taurus*; Kördel et al. 1997, PDB-Kennung 1B1G; Modell 1; grün). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 4.33, Abb. 4.34, Abb. 4.40 und Abb. 4.46.

	RMSD des Proteinrückgrats von dem der mittleren Struktur von holo Bet v 4 <sup>a</sup> / Å	Winkel zwischen den beiden $\alpha$ -Helices der ersten EF-Hand <sup>b</sup> / °	Winkel zwischen den beiden $\alpha$ -Helices der zweiten EF-Hand <sup>b</sup> / °
holo Bet v 4 <sup>c</sup>	$0,41 \pm 0,11$ (84 Reste)	$101,\!5\pm0,\!9$	$96{,}9\pm1{,}0$
apo Calmodulin NH2 <sup>d</sup>	3,46 (68 Reste)	131,2	131,5
apo Calmodulin COOH <sup>e</sup>	4,31 (65 Reste)	139,0	125,6
holo Calmodulin $NH_2^{f}$	1,42 (68 Reste)	103,9	102,7
holo Calmodulin COOH <sup>g</sup>	1,39 (65 Reste)	104,9	103,8
holo Troponin C $\rm NH_2^{\ h}$	1,37 (68 Reste)	97,3	97,7
holo Parvalbumin <sup>i</sup>	2,52 (68 Reste)	105,0	103,1
holo Calbindin $D_{9k}{}^{j}$	3,82 (67 Reste)	131,0	108,7

#### Tab. 4.14 Vergleich ausgewählter repräsentativer EF-Hand-Proteine.

a Standardabweichungen der Atomkoordinaten des Proteinrückgrats von dem der mittleren Struktur von holo Bet v 4 aus der Strukturberechnung mit dipolaren Kopplungskonstanten (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) über alle nach Abb. 1.10 äquivalenten Reste, mit Ausnahme von holo Bet v 4<sup>c</sup> selbst allerdings ohne die unstrukturierten NH<sub>2</sub>-terminalen Reste 1-4 und die COOHterminalen Reste 73-84 mit der amphipatischen Helix  $\alpha_5$ 

b Berechnet nach dem Algorithmus von Kuboniwa et al. (1995)

c Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B; angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die 25 akzeptierten Strukturen nach dem Muster Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung;  $\alpha_1$ : 5-18,  $\alpha_2$ : 28-38,  $\alpha_3$ : 43-53,  $\alpha_4$ : 63-72

d Chou et al. 2000, PDB-Kennung 1F70; Modell 10; α<sub>1</sub>: 6-19, α<sub>2</sub>: 29-39, α<sub>3</sub>: 45-55, α<sub>4</sub>: 65-76

e Chou et al. 2000, PDB-Kennung 1F71; Modell 6; α<sub>1</sub>: 82-92, α<sub>2</sub>: 102-112, α<sub>3</sub>: 118-128, α<sub>4</sub>: 138-148

f Chou et al. 2001, PDB-Kennung 1J7O; Modell 2; α<sub>1</sub>: 6-19, α<sub>2</sub>: 29-39, α<sub>3</sub>: 45-55, α<sub>4</sub>: 65-76

g Chou et al. 2001, PDB-Kennung 1J7P; Modell 2; α<sub>1</sub>: 82-92, α<sub>2</sub>: 102-112, α<sub>3</sub>: 118-128, α<sub>4</sub>: 138-146

h Strynadka et al. 1997, PDB-Kennung 1AVS; Monomer B;  $\alpha_1$ : 16-29,  $\alpha_2$ : 39-48,  $\alpha_3$ : 55-65,  $\alpha_4$ : 75-85

i Swain et al. 1989, PDB-Kennung 5CPV;  $\alpha_1$ : 40-50,  $\alpha_2$ : 60-65,  $\alpha_3$ : 79-89,  $\alpha_4$ : 99-107

j Kördel et al. 1997, PDB-Kennung 1B1G; Modell 1; α<sub>1</sub>: 3-13, α<sub>2</sub>: 25-35, α<sub>3</sub>: 46-53, α<sub>4</sub>: 63-72

## 4.8 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Pyr c 5

Das 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Pyr c 5 (Abb. 4.48) zeigt trotz der wegen seiner relativen Molekülmasse von etwa 33,8 *kDa* relativ breiten Linien eine gute spektrale Dispersion mit mehreren hochfeldverschobenen aliphatischen Protonenresonanzen, was auf ein globulär gefaltetes Protein mit einer gemischten  $\alpha/\beta$ -Sekundärstruktur schließen lässt, im Einklang mit den Ergebnissen gängiger Sekundärstrukturvorhersageprogramme. Die im Vergleich zu den Amidprotonenresonanzen vergleichsweise scharfe Resonanz bei 10,26 *ppm* stammt vom H $\epsilon$ 1-Atom des einzigen, bei den mit Bet v 6 verwandten Allergenen und den Isoflavon-Reduktase-artigen Proteinen hochkonservierten Tryptophans Trp 230 (Abb. 1.11; Karamloo et al. 2001b; Kawamoto et al. 2002), wie die charakteristischen NOE-Kreuzresonanzen mit den benachbarten Protonen des eigenen Indoldoppelrings bei 7,07 *ppm* und 6,79 *ppm* zeigen (Abb. 4.49).



eine gemischte  $\alpha/\beta$ -Sekundärstruktur hin. Die relativ scharfe Resonanz bei 10,26 *ppm* stammt vom H $\epsilon$ 1-Atom von Trp 230 (siehe Abb. 4.49).



10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 0 **Abb. 4.49 2D-TOCSY (blau) und 2D-NOESY (rot) von Pyr c 5 (Tab. 3.1).** Die chemischen Verschiebungen entlang der direkten <sup>1</sup>H-Dimension F2 (Abszisse) und der indirekten <sup>1</sup>H-Dimension F1 (Ordinate) sind jeweils in *ppm* angegeben. Die gute Dispersion der chemischen Verschiebungen weist auf eine gemischte α/β-Sekundärstruktur hin. Die relativ scharfe Resonanz bei 10,26 *ppm* stammt vom Hε1-Atom von Trp 230, wie die charakteristischen NOE-Kreuzresonanzen mit den benachbarten Protonen des eigenen Indoldoppelrings bei 7,07 *ppm* und 6,79 *ppm* zeigen.

## 5. Diskussion

### 5.1 Verbesserung der Effizienz des gaußförmigen Datenbank-Potentials

Obwohl Gordon Moore von der Firma Intel bereits 1965 feststellte, dass sich die verfügbare Rechenleistung etwa alle eineinhalb bis zwei Jahre verdoppelt, ist ein effizienter Umgang mit den Ressourcen CPU-Zeit und Speicherplatz nach wie vor interessant, da er die direkte Umsetzung der Steigerung der Rechenleistung in eine Verbesserung der Ergebnisse mit manchmal sogar ebenfalls exponentiell zunehmender Komplexität erlaubt. Dies gilt auch und gerade für die Strukturberechnung biologischer Makromoleküle auf der Grundlage NMR-spektroskopischer Randbedingungen, wo die methodischen Fortschritte im Bereich der NMR-Spektroskopie immer größere Systeme experimentell zugänglich machen und die Durchführung möglichst vieler möglichst schneller möglichst präziser Testrechnungen zur iterativen Auflösung möglichst vieler Mehrdeutigkeiten bei der Identifizierung von NOE-Kreuzresonanzen (Abschnitt 3.1.5.1) der Anzahl der experimentellen Randbedingungen und damit der Qualität der berechneten Strukturen zugute kommt. Gerade im Anfangsstadium der Strukturberechnung, wenn erst wenige experimentelle Randbedingungen zur Verfügung stehen, ist die im Datenbank-Potential steckende zusätzliche Strukturinformation besonders interessant, beispielsweise zur Stabilisierung der regulären Sekundärstrukturelemente, und gerade in diesen Strukturberechnungen mit nur relativ wenigen experimentellen Randbedingungen sind die negativen Auswirkungen der Unstetigkeiten des diskreten ursprünglichen Datenbank-Potentials besonders ausgeprägt (Kuszewski und Clore 2000).

Wie bereits in Abschnitt 4.3 festgestellt konnten durch Einführung eines Standard-Grenzwerts von 10,0 Standardabweichungen bereits mehr als 25 % der durch die Verwendung des gaußförmigen Datenbank-Potentials bedingten Erhöhung der für die Strukturberechnung von Pru av 1 wt benötigten CPU-Zeit eingespart werden, ohne die Ergebnisse der Strukturberechnung überhaupt zu beeinflussen. Die Wahl eines geeigneten Grenzwerts erfordert immer einen Kompromiss zwischen Berechnungsgeschwindigkeit und Qualität der resultierenden Strukturen, man sollte aber berücksichtigen, dass extrem niedrige Grenzwerte zu neuen Unstetigkeiten führen können. Es ist jedenfalls offensichtlich, dass der durch einen sorgfältig gewählten Grenzwert verursachte Fehler für die Hyperflächen weitaus geringer ist als die Fehler, die aus der Ungenauigkeit der Kristallstrukturen in der Datenbank, dem verwendeten Diskretisierungsverfahren und der Annäherung der Hyperflächen durch eine endliche Anzahl von Gauß-Funktionen resultieren. Ausserdem verbessert ein endlicher Grenzwert durch Verhinderung so genannter Underflow-Exceptions auch die Stabilität des Codes, da der Wert einer Gauß-Funktion im Abstand von mehr als 37,64 Standardabweichungen vom Mittelpunkt kleiner ist als  $2,225 \cdot 10^{-308}$ , die kleinste positive normale Zahl, die sich im Fließkommazahlenformat doppelter Genauigkeit nach dem IEEE-Standard 754-1985 darstellen lässt.

Die Nützlichkeit der Einführung eines solchen Grenzwerts wird dadurch unterstrichen, dass neuere NIH-Versionen (Schwieters et al. 2003) von X-PLOR 3.851 (Brünger 1992b) mittlerweile eine ähnliche Modifikation enthalten. Der in dieser Arbeit vorgeschlagene Standardgrenzwert von 10,0 Standardabweichungen wird in unserer Arbeitsgruppe bei der Strukturberechnung biologischer Makromoleküle mittlerweile routinemäßig eingesetzt (neben den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Projekten beispielsweise Schweimer et al. 2002, Lauber et al. 2003a, Lauber et al. 2003b sowie mehrere noch unveröffentlichte Projekte).

### 5.2 Korrektur der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie

Die in unserer und vielen anderen Arbeitsgruppen bisher verwendete die Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie enthaltende Datei parallhdg.pro (Brünger 1992b) bzw. ihre für die indirekte stereospezifische Zuordnung der Resonanzen (Abschnitt 3.2.4) modifizierte Version parallhdg.hs (Beißinger et al. 1998; Sticht et al. 1998) enthalten mehrere Inkonsistenzen, insbesondere hinsichtlich der kovalenten Geometrie an den C $\alpha$ -Atomen mit Ausnahme von Glycin und entlang der Prolin-Ringe. Neben einer Verzerrung der kovalenten Geometrie der resultierenden Strukturen führen diese Inkonsistenzen auch zu weit übersteigerten Werten für die Zielfunktion  $E_{pot}$  und die Standardabweichungen von der idealen kovalenten Geometrie, insbesondere was den Potentialterm für die Bindungswinkel  $E_{angles}$ , der die Zielfunktion  $E_{pot}$  fast vollständig dominiert, und die Standardabweichungen von den idealen Bindungswinkeln anbetrifft (siehe etwa Tab. 4.2 und Tab. 4.4), was die Aussagekraft dieser Werte für die Qualität der resultierenden Strukturen durch Überlagerung der wirklich ernst zu nehmenden Abweichungen von der kovalenten Geometrie untergräbt und die Erkennung und Lokalisierung von Fehlern deutlich erschwert.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher eine Korrektur dieser Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie durchgeführt (Abschnitt 4.4), indem erstens die ideale tetraedrische Geometrie an den C $\alpha$ -Atomen wiederhergestellt wurde, zweitens die kovalente Geometrie der schweren Atome der Prolin-Ringe auf die aus statistischen Auswertungen von mit Hilfe von Röntgenkristallographie bestimmten Strukturen kleinerer Moleküle erhaltenen Werte (Engh und Huber 1991) gesetzt wurde, soweit dies ohne eine Beeinträchtigung anderer Aminosäuretypen möglich war, und drittens die idealen Bindungswinkel der Prolin-Ringe unter Beteiligung von Wasserstoffatomen iterativ in Schritten von 0,5° bis zur Konvergenz auf eine Minimierung der Zielfunktion E<sub>pot</sub> hin angepasst wurden. Während die ersten beiden Maßnahmen ganz offensichtlich sowohl zu einer realistischeren kovalenten Geometrie der resultierenden Strukturen als auch zu aussagekräftigeren Werten für die Zielfunktion  $E_{pot}$  und für die Standardabweichungen von der idealen kovalenten Geometrie beitragen, kann bei der dritten Maßnahme nicht zwangsläufig davon ausgegangen werden, dass sie zu einer realistischeren Position der Wasserstoffatome relativ zu den schweren Atomen der Prolin-Ringe führt, da die Anpassung der idealen Bindungswinkel der Prolin-Ringe unter Beteiligung von Wasserstoffatomen mangels ähnlich präziser und allgemein anerkannter experimenteller Daten, wie sie für die schweren Atome vorliegen (Engh und Huber 1991), ausschließlich nach dem Kriterium der Minimierung der Zielfunktion E pot erfolgte. Trotzdem ermöglichte gerade diese Maßnahme noch einmal eine deutliche Senkung insbesondere des Potentialterms für die Bindungswinkel  $E_{angles}$  (Abschnitt 4.4) und damit eine maßgebliche Steigerung der Aussagekraft der Zielfunktion E<sub>pot</sub> und der Standardabweichungen von der idealen kovalenten Geometrie für die Qualität der resultierenden Strukturen, zumal die vorgenommenen Änderungen der idealen Bindungswinkel von maximal 2.5° gegenüber dem idealen Tetraederwinkel, was bei einer typischen Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindungslänge von 1.08 Å einer Positionsänderung von weniger als 0.05 Å entspricht, im Rahmen der erreichbaren Genauigkeit experimentell bestimmter Proteinstrukturen sowieso als marginal anzusehen sind.

Durch diese Korrektur der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie konnten die Werte des Potentialterms  $E_{angles}$  in der Tat in die gleiche Größenordnung gesenkt werden wie die anderen Terme der Zielfunktion  $E_{pot}$  (Tab. 4.3, Tab. 4.5, Tab. 4.8, Tab. 4.11 und Tab. 4.12), obwohl sie immer noch etwas größer sind. Eine weitere Reduzierung wäre sicher durch Einführung neuer Atomtypen möglich, worauf aus Kompatibilitätsgründen jedoch verzichtet wurde, so dass die die Standardtopologie enthaltende Datei topallhdg.pro (Brünger 1992b) bzw. topallhdg.hs (Beißinger et al. 1998; Sticht et al. 1998) und die damit erzeugten PSF-Dateien weiterverwendet werden können. Die in Anhang 10.6.3 abgedruckte korrigierte Parameterdatei parallhdg\_min.pn wird in unserer Arbeitsgruppe bei der Strukturberechnung biologischer Makromoleküle mittlerweile routinemäßig eingesetzt (neben den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Projekten mehrere noch unveröffentlichte Projekte).

## 5.3 Wechselwirkung von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Lipidliganden

### 5.3.1 Untersuchung der Wechselwirkung von Pru av 1 wt mit Steroiden

Bet v 1, Pru av 1 wt und Gly m 4 bilden in ihrem Innern einen große hydrophoben Hohlraum (Abb. 4.6). Ein so großer Hohlraum ist sehr ungewöhnlich und dürfte daher für ihre physiologische Funktion von Bedeutung sein. Eine offensichtliche Möglichkeit für den physiologischen Zweck eines solchen Hohlraums stellt die Bindung eines hydrophoben Liganden dar. Ein Hinweis auf die Art dieses hypothetischen Liganden ergab sich aus der Bestimmung der Kristallstruktur der START-Domäne des menschlichen Proteins MLN64 (Tsujishita und Hurley 2000), die trotz niedriger Sequenzidentität eine bemerkenswerte strukturelle Ähnlichkeit zu Bet v 1, Pru av 1 wt und Gly m 4 zeigt (Abschnitt 1.2.1.5). Die Rolle der START-Domänen beim Transport von Lipiden, insbesondere von Steroiden, deutet auf Phytosteroide als potentielle Liganden von Bet v 1, Pru av 1 wt und Gly m 4 hin.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte in der Tat erstmals eine Wechselwirkung eines mit Bet v 1 verwandten Allergens mit Steroiden experimentell nachgewiesen werden (Abschnitt 4.2.1; Neudecker et al. 2001a), da Pru av 1 wt sowohl bei Zugabe des Brassinosteroids 28-Homocastasteron (Abb. 4.2) als auch bei Titration mit dem besser wasserlöslichen Steroid Desoxycholat (Abb. 4.3) eine deutliche Linienverbreiterung und teilweise auch Linienverschiebung zeigte, deren Ursache in auf der NMR-Zeitskala intermediäre bis schnelle Austauschprozesse im Rahmen der Wechselwirkung mit diesen Steroiden zu suchen ist. Im Gegensatz zu 28-Homocastasteron, dessen schlechte Wasserlöslichkeit eine echte Titration verhinderte, konnte mit Desoxycholat zwar eine Titration von Pru av 1 wt durchgeführt werden (Abb. 4.3), aus der jedoch leider ebenfalls keine zuverlässige Quantifizierung der Bindungsaffinität und Bindungskinetik erfolgen konnte. Diese würde im Bereich des intermediären Austauschs nämlich angesichts der nicht genau bekannten Stöchiometrie von vermutlich zwei Molekülen Desoxycholat pro Molekül Pru av 1 wt (siehe unten) und damit der nicht genau bekannten Anzahl beteiligter Bindungszustände von vermutlich mindestens drei eine gleichzeitige Bestimmung der Anzahl und der Werte aller beteiligten kinetischen Konstanten aus einer quantitativen Linienformanalyse erfordern (Sandström 1982; Johnson et al. 1998), was wegen des begrenzten Informationsgehalts der experimentellen Daten unrealistisch ist, zumal die schlechte Auflösung der 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren (Abb. 4.3) eine solche quantitative Linienformanalyse sowieso nur für einige wenige Resonanzen erlaubt.

### 5.3.2 Modellierung der Komplexstruktur von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Lipidliganden

Eine qualitative Analyse dieser NMR-Experimente (Abb. 4.2 und Abb. 4.3) allerdings zeigte, dass die betroffenen Reste den unteren Teil des hydrophoben Hohlraums von Pru av 1 wt wie einen Trichter umgeben (Abb. 4.6), was die Vermutung stützt, dass die Steroidbindung im Innern des hydrophoben Hohlraums stattfindet. Die bereits vermutete (Neudecker 2000, Abschnitt 6.4) deutlich erhöhte interne Flexibilität des Proteinrückgrats der Schleife von Glu 60 bis Gln 63 und der räumlich unmittelbar benachbarten Windung von Ala 135 bis Glu 138 der COOH-terminalen Helix  $\alpha_3$ , die durch Messung der heteronuklearen {<sup>1</sup>H}<sup>15</sup>N-NOEs bestätigt werden konnte (Abschnitt 4.1; Neudecker et al. 2001a), könnte den Eintritt und/oder den Austritt der Steroidmoleküle in den bzw. aus dem hydrophoben Hohlraum durch die an dieser Stelle befindliche Öffnung (Abschnitt 4.2.2; Gajhede et al. 1996; Neudecker 2000, Abschnitt 6.4; Neudecker et al. 2001a) erlauben, obwohl diese Schleife bei Gly m 4, LlPR10.1A und LlPR10.1B eine etwas regulärere Hairpin-Konformation anzunehmen scheint (Abb. 4.24). Die dazu äquivalente Öffnung wurde auch bei der START-Domäne von MLN64 (Tsujishita und Hurley 2000), bei PITP (Yoder et al. 2001; Schouten et al. 2002) und bei PCTP (Roderick et al. 2002) bereits als Ein- und/oder Austrittsöffnung der jeweiligen Liganden vorgeschlagen, da sich einige der als pathogen bekannten Mutationen von StAR in diesem Bereich befinden. Das Volumen des hydrophoben Hohlraums von Bet v 1, Pru av 1 wt und Gly m 4 ist mit etwa  $1600 \text{ Å}^3$  jedoch deutlich größer als das des hydrophoben Hohlraums von MLN64 mit etwa 1000 Å<sup>3</sup>, was in etwa das für die Aufnahme eines einzelnen Cholesterin-Moleküls benötigte Volumen ist (Tsujishita und Hurley 2000, das dort angegebene Volumen von 1900 Å<sup>3</sup> enthält Bereiche, die nicht für die Ligandenbindung zur Verfügung stehen; Neudecker et al. 2001a; Romanowski et al. 2002). Dementsprechend zeigte die Modellierung der Komplexstruktur von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt mit Castasteron, dass der Hohlraum groß genug ist, ohne signifikante strukturelle Änderungen ein oder zwei Castasteron-Moleküle in mehreren verschiedenen Positionen und Orientierungen aufzunehmen (Abschnitt 4.2.2; Neudecker et al. 2001a).

Diese Vorhersage wurde durch die vor kurzem bestimmte Kristallstruktur von Bet v 1.1001 im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen bestätigt (Markovic-Housley et al. 2003, PDB-Kennung 1FM4). Die Übertragung dieser Komplexstruktur auf Pru av 1 wt zeigte, dass neben vielen unspezifischen hydrophoben Kontakten auch viele der intermolekularen Wasserstoffbrücken konserviert zu sein scheinen (Abschnitt 4.2.2), die ganz offensichtlich eine gewisse Ligandenspezifität aufweisen, wie die unterschiedliche Reaktion der Amidprotonenresonanz von Tyr 120, dessen Hydroxylgruppe eine Wasserstoffbrücke mit der bei 28-Homocastasteron nicht vorhandenen Carboxylatgruppe eines der beiden Desoxycholat-Moleküle bildet, auf Zugabe von 28-Homocastasteron (Abb. 4.2) bzw. Desoxycholat (Abb. 4.3) zeigt. Ein Vergleich der theoretisch vorhergesagten Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Castasteron-Molekülen mit der auf der experimentell bestimmten Komplexstruktur von Bet v 1.1001 beruhenden Modellstruktur von Pru av 1 wt im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen (Abb. 4.6 und Abb. 4.7) macht deutlich, wie gut die Position und Orientierung der Steroidmoleküle im hydrophoben Hohlraum bereits über ein Jahr vor der Veröffentlichung dieser Kristallstruktur (Markovic-Housley et al. 2003) theoretisch vorhergesagt werden konnte (Abschnitt 4.2.2; Neudecker et al. 2001a). Angesichts der Tatsache, dass dazu außer der Beschränkung auf den hydrophoben Hohlraum keine experimentelle Strukturinformation über die Steroidbindung zur Verfügung stand, überrascht die Genauigkeit dieser Vorhersage, zumal die auffälligste Abweichung durch einen sterischen Konflikt mit der Seitenkette von His 132 bedingt ist, was bei Bet v 1.2801 ein Wegklappen der entsprechenden Seitenkette Gln 132 bei Desoxycholatbindung erfordert (Abschnitt 4.2.2). Die Stöchiometrie der Steroidbindung von Betv1 und Pruav1wt könnte allerdings ligandenspezifisch sein, denn im Gegensatz zu Brassinolid (Grove et al. 1979; Adam et al. 1996; Adam et al. 1999; Fujioka 1999; Khripach et al. 1999, Abschnitt II.B), wo der Komplex von Bet v 1.1001 sowohl mit einem als auch mit zwei Brassinolid-Molekülen in massenspektroskopischen Untersuchungen nachgewiesen werden konnte, beobachtete man bei 24-Epicastasteron (Adam et al. 1996; Adam et al 1999; Fujioka 1999; Khripach et al. 1999, Abschnitt II.B) lediglich den Komplex von Bet v 1.1001 mit einem 24-Epicastasteron-Molekül und bei Cholesterin überhaupt keine Bindung an Bet v 1.1001 (Markovic-Housley et al. 2003).

Die beobachtete Wechselwirkung von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit verschiedenen Brassinosteroiden passt gut zu der Tatsache, dass Brassinosteroide genau wie die PR-10-Proteine (Abschnitt 1.2.1.4) bei Pflanzen sowohl der Klasse *Monocotyledonae* als auch der Klasse *Eudicotyledonae* gefunden wurden und ebenfalls in Pollen und Samen in besonders hohen Konzentrationen von bis zu  $1 \mu g$  pro Gramm frischer Pollen auftreten (zusammengefasst in Adam et al. 1996; Adam et al. 1999; Fujioka 1999; Khripach et al. 1999, Kapitel III). Außerdem sind Brassinosteroide für ihre hohe biologische Wirksamkeit unter anderem bei der Regulation des Wachstums und der Entwicklung sowie bei der Stressantwort und Krankheitsabwehr bekannt (zusammengefasst in Sasse 1999; Khripach et al. 1999, Kapitel IX), also den Bereichen, bei denen auch die PR-10-Proteine eine Rolle zu spielen scheinen. Im Gegensatz zu den meist intrazellulär löslichen DNA-bindenden tierischen Steroidrezeptoren ist der einzige bisher bekannte Rezeptor für Brassinosteroide BRI1 aus der Ackerschmalwand (Arabidopsis thaliana; Li und Chory 1997; He et al. 2000; Wang et al. 2001) in der Zellmembran verankert, wo er mit seiner extrazellulären Domäne bestehend aus 25 leucinreichen Wiederholungen (LRR) unterbrochen durch einen 70 Aminosäuren langen Abschnitt selektiv biologisch aktive Brassinosteroide erkennt und durch Autophosphorylierung seiner intrazellulären Kinase-Domäne eine Signaltransduktionskaskade auslöst (zusammengefasst in Clouse und Feldmann 1999; Khripach et al. 1999, Kapitel IX; Schumacher und Chory 2000; Clouse 2002). Da noch nicht bekannt ist, ob die extrazelluläre Domäne von BRI1 die Brassinosteroide direkt bindet oder indirekt durch Bindung von ihrerseits Brassinosteroide bindenden Proteinen, könnten die mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine genau solche Proteine darstellen. Für eine direkte Bindung der Brassinosteroide an BRI1 spricht jedoch, dass die BRI1-Konzentration für die Bindung biologisch aktiver Brassinosteroide limitierend ist (Wang et al. 2001). Da sich die mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine vor allem im Zytosol befinden (Abschnitt 1.2.1.4), wurde statt einer Wechselwirkung mit BRI1 eine Wechselwirkung mit hypothetischen intrazellulär löslichen Steroidrezeptoren ähnlich den tierischen vorgeschlagen (Markovic-Housley et al. 2003). Dagegen wiederum spricht, dass solche Rezeptoren im bereits vollständig sequenzierten Genom der Ackerschmalwand nicht gefunden werden konnten (Clouse 2002). Alternativ könnten die mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteinen anstelle einer Funktion in der Brassinosteroid-Signaltransduktion natürlich auch eine Rolle im Brassinosteroid-Metabolismus erfüllen.

Trotz der auffälligen strukturellen Verwandtschaft mit der START-Domäne von MLN64 gibt es allerdings auch deutliche Unterschiede. Im Gegensatz zum relativ kleinen tunnelartigen Hohlraum der START-Domäne von MLN64 mit zwei ebenfalls relativ kleinen Öffnungen an der Moleküloberfläche ist der deutlich größere (siehe oben) Hohlraum der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine Y-förmig verzweigt und besitzt drei Öffnungen an der Moleküloberfläche (Abschnitt 4.2.2) sowie die als Phosphatbindungsmotiv bekannte hochkonservierte P-Schleife (Abschnitt 1.2.1.4), erscheint also ideal geeignet für die Bindung von Phospholipiden. Die Modellierung der hypothetischen Komplexstruktur von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt mit PtdCho unterstützt dies, da die negativ geladene Phosphatgruppe des PtdCho-Moleküls eine elektrostatische Wechselwirkung mit der positiv geladenen Seitenkette des bei den mit Bet v 1 verwandten Allergenen hochkonservierten Lys 54 (Abb. 1.1) am Ende der P-Schleife (Abschnitt 1.2.1.4) eingehen kann und die beiden Fettsäureseitenketten die beiden Äste des Y-förmig verzweigten hydrophoben Hohlraums ausfüllen (Abb. 4.9). Die Seitenkette

von Lys 54 wird ihrerseits durch eine Salzbrücke mit der Carboxylatgruppe des ebenfalls hochkonservierten Asp 27 (Abb 1.1) positioniert (nicht dargestellt). Diese hypothetische Art der PtdCho-Bindung an Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt weicht wie in Abschnitt 4.2.2 beschrieben im Wesentlichen in zwei Punkten von der Kristallstruktur von PITP im Komplex mit einem PtdCho-Molekül (Yoder et al. 2001, PDB-Kennung 1FVZ) ab. Erstens ist die Position der beiden Fettsäureseitenketten vertauscht, was jedoch angesichts der durch die fehlenden experimentellen Strukturinformationen bedingten niedrigen Selektivität der Modellierung reiner Zufall sein dürfte, da kein offensichtlicher Grund gegen die gleiche Orientierung der Fettsäureseitenketten wie bei PITP spricht. Zweitens jedoch befindet sich die PtdCho-Kopfgruppe im Komplex mit PITP nicht so tief im Hohlraum wie im hypothetischen Komplex mit Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt (Abb. 4.8) und seine negativ geladene Phosphatgruppe zeigt eine elektrostatische Wechselwirkung mit der positiv geladenen Seitenkette von Lys 195, das zu Ile 116 von Bet v 1.0101, Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt äquivalent ist (Abb. 1.7). Das zu Lys 54 von Bet v 1.0101, Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt äquivalente Lys 61 ist allerdings auch bei PITP konserviert (Abb. 1.7) und wurde vor kurzem als eigentlich bevorzugte Phospholipidkopfgruppenbindungsstelle von PITP vorgeschlagen, um die etwa 16-fach höhere Affinität von PITP für Phosphatidylinositol als für PtdCho zu erklären (Schouten et al. 2002).

# 5.3.3 Implikationen für die physiologische Funktion im Kontext aktueller Entwicklungen

Die Veröffentlichung der im Rahmen dieser Arbeit experimentell nachgewiesenen Wechselwirkung von Pru av 1 wt mit Brassinosteroiden (Neudecker et al. 2001a) veranlasste eine dänische Arbeitsgruppe zu einer quantitativen Analyse der Bindung einer ganzen Reihe verschiedener Lipide an Bet v 1.2801 mit Hilfe von Fluoreszenzspektroskopie-Titrationen, die je nach Fluoreszenzaktivtät des jeweiligen Liganden entweder als direkte Titration oder als kompetitive Titration mit ANS durchgeführt wurden (Mogensen et al. 2002). Das einzige untersuchte Steroid Dehydroergosterol zeigte dabei tatsächlich eine Bindung an Bet v 1.2801, und zwar mit einer Dissoziationskonstante in der Größenordnung  $10^{-5} M$  bei einer Stöchiometrie von vermutlich 1:1 wie bereits im Fall von 24-Epicastasteron (siehe oben). Eine Bindungsaffinität in dieser Größenordnung wäre zweifellos nicht ausreichend für die bereits im nanomolaren Konzentrationsbereich (zusammengefasst in Sasse 1999; Khripach et al. 1999, Kapitel IX) beobachtete hohe biologische Wirksamkeit der Brassinosteroide, so dass die Affinität von Bet v 1.2801 entweder für biologisch aktive Brassinosteroide höher sein müsste als für Dehydroergosterol oder aber ein hypothetischer dritter Komplexteilnehmer die Affinität für Steroide steigern müsste, wenn Bet v 1.2801 wirklich eine Rolle in der Brassinosteroid-Signaltransduktion spielen sollte (siehe oben). Im Gegensatz zu StAR (Abschnitt 1.2.1.5) konnte Bet v 1.2801 im Reagenzglas den Dehydroergosterolaustausch von unilamellaren Vesikeln nicht katalysieren (Mogensen et al. 2002). Neben Dehydroergosterol zeigten in dieser Untersuchung allerdings auch eine ganze Reihe weiterer Lipide eine Bindung an Bet v 1.2801 mit Dissoziationskonstanten in der Größenordnung  $10^{-4}M$  bis  $10^{-6}M$ , insbesondere Fettsäuren unterschiedlicher Länge, Flavonoide und purinbasierte Cytokinine. Die höchste Affinität zeigten dabei gesättigte wie ungesättigte Fettsäuren mit etwa 14 bis 18 Kohlenstoffatomen. Dieser Befund passt gut zur oben diskutierten hypothetischen Bindung von Phosholipiden mit ähnlich langkettigen Fettsäureseitenketten an Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt, leider wurden jedoch keine ganzen Phospholipide untersucht und daher ist nicht bekannt, ob die hypothetische zusätzliche Bindung der Phosphatgruppe durch die P-Schleife die Affinität für ganze Phospholipide im Vergleich zu einzelnen Fettsäuren wie erwartet steigert. Während sich die Bindungsstelle von Dehydroergosterol, Fettsäuren und Flavonoiden genauso wie von ANS im hydrophoben Hohlraum im Innern des Proteins befand, verdrängten die beiden untersuchten purinbasierten Cytokinine gebundenes ANS nicht, was die Hypothese unterstützt, dass die P-Schleife die Bindungsstelle purinbasierter Cytokinine darstellt (Abschnitt 1.2.1.4; Mogensen et al. 2002; Biesiadka et al. 2002). Die im Vergleich zu CSBP um drei Größenordnungen niedrigere Affinität von Bet v 1.2801 für solche purinbasierte Cytokinine könnte dann auf eine ungünstige elektrostatische Wechselwirkung mit der positiv geladenen Seitenkette von Lys 54 zurückzuführen sein (vgl. Abschnitt 1.2.1.4), da die untersuchten Cytokinine keine negativ geladenen funktionellen Gruppen besitzen.

Die Ergebnisse dieser fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen werfen zweifellos die Frage nach der Spezifität und der physiologischen Relevanz der Bindung von Steroiden und anderen Lipiden an die mit Bet v 1 verwandten Allergene und vielleicht auch PR-10-Proteine auf. Da noch nicht einmal klar ist, ob diese relativ niedrigaffine Bindung eines breiten Spektrums unterschiedlichster Lipide beispielsweise im Rahmen einer Funktion als unspezifische Lipidtransferproteine physiologisch relevant ist oder aber nur das Nebenprodukt einer hochaffinen Bindung eines noch nicht identifizierten spezifischen Lipidliganden darstellt, sei an dieser Stelle darauf verzichtet, den bereits in Abschnitt 1.2.1.4 ausführlich diskutierten Spekulationen über die physiologische Funktion der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine aus der Literatur noch eine weitere hinzuzufügen. Fasst man die oben dargestellten theoretischen und experimentellen Befunde zur Ligandenbindung der mit Bet v 1 verwandten Allergene aus strukturbiologischer Sicht zusammen, dann lässt sich die Tertiärstruktur dieser Proteine konzeptionell auf zwei Motive reduzieren, zum einen die einen großen hydrophoben Hohlraum in ihrem Innern bildende START-Domänenfaltung, die sich im Rahmen der Evolution zum universellen Lipidbindungsmotiv der START-Superfamilie entwickelt zu haben scheint, und zum anderen die für die mit Bet v 1 verwandten Allergene und die meisten PR-10-Proteine spezifische hochkonservierte P-Schleife, die als Nukleotid- und/oder Phosphatbindungsmotiv bekannt ist. Beide Elemente dürften für die physiologische Funktion wesentlich sein. Dabei bleibt aber offen, ob diese beiden Motive für die Bindung des gleichen Liganden bestimmt sind, beispielsweise von Phospholipiden oder phosphorylierten Flavonoiden wie FAD, oder aber von verschiedenen Liganden, beispielsweise im Rahmen einer ATP- oder NADPH-abhängigen katalytischen Funktion.

Unmittelbar vor Abschluss dieser Arbeit wurde die Identifizierung und Klonierung des aus 158 Aminosäuren (ohne dem NH<sub>2</sub>-terminalen Methionin) bestehenden Proteins Hyp-1 aus dem Johanniskraut (Hypericum perforatum) veröffentlicht (Bais et al. 2003), das 35,4 % Sequenzidentität mit Bet v 1.0101 besitzt. Hyp-1 katalysiert die Biosynthese des rot gefärbten photosensitiven Naphtodianthrons Hypericin, des durch seine Monoamin-Oxidase-Inhibition antidepressiven Wirkstoffs des Johanniskrautextrakts, aus dem gelb gefärbten Flavonoid Emontin. Der genaue Ablauf der Hypericin-Biosynthese ist noch unbekannt. Es wird vermutet, dass zunächst im Rahmen des Polyketid-Metabolismus (vgl. Abschnitt 1.2.1.5) aus Acetyl-Coenzym-A und Malonyl-Coenzym-A in mehreren Schritten Emodin hergestellt wird, das dann durch Kondensation mit anschließender Wasserabspaltung dimerisiert und durch zwei Phenoloxidationen über Protohypericin in Hypericin umgewandelt wird (Bais et al. 2003). Da diese Katalyse der Hypericinsynthese aus Emodin durch Hyp-1 auch im Dunkeln abläuft, müsste Hyp-1 dann also alle vier Schritte einschließlich der normalerweise photoaktivierten zweiten Phenoloxidation katalysieren. Die katalytische Aktivität von Hyp-1 ist optimal bei neutralem pH und Raumtemperatur und konnte in Anwesenheit von Mn<sup>2+</sup>-Ionen etwa verdoppelt werden, wohingegen weder Ca<sup>2+</sup>-Ionen noch Mg<sup>2+</sup>-Ionen oder ATP in den durchgeführten Experimenten einen Einfluss hatten. Diese Experimente wurden allerdings in einem etwa 1000-fachen Überschuss an Phosphatpuffer durchgeführt, so dass meiner Meinung nach neben einem eventuellen direkten Einfluss des Phosphats auf die Katalyse gerade bei neutralem pH auch nicht auszuschließen ist, dass ein Großteil der Ca<sup>2+</sup>-Ionen durch den Phosphatpuffer unter Bildung von unlöslichem Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (Holleman et al. 1995, Abschnitt XIV.2.5.4) ausgefällt wurde. Die katalytische Aktivität von Hyp-1 konnte außerdem durch die Emodinanaloga Rhein, Rheinmethylester und DNA3-55-1 zumindest teilweise inhibiert werden, wobei die Ef-
fizienz dieser Inhibition mit der Hydrophobizität des Inhibitors positiv korreliert zu sein scheint (Bais et al. 2003).

Diese Ergebnisse lassen angesichts der signifikanten Sequenzidentität mit Hyp-1 auch für die mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine eine katalytische Funktion vermuten, vielleicht sogar die gleiche katalytische Funktion wie bei Hyp-1. Es gibt allerdings auch einige Unterschiede zwischen Hyp-1 einerseits und den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen andererseits. So konnte beispielsweise im Gegensatz zu den meisten mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen (Abschnitt 1.2.1.4) nur ein einzelnes für Hyp-1 codierendes Gen identifiziert werden, und dementsprechend scheint Hyp-1 auch in allen Gewebearten gleichermaßen exprimiert zu werden, zumindest bei Dunkelheit (Bais et al. 2003). Außerdem ist die Sequenz der P-Schleife bei Hyp-1 nur mit Ausnahme des unter den mit Bet v 1 verwandten Allergenen hochkonservierten Lys 54 (Abb. 1.1) erhalten, das durch ein Threonin ersetzt ist, und das mit Lys 54 eine Salzbrücke bildende ebenfalls hochkonservierte Asp 27 (Abb. 1.1) dementsprechend durch ein Histidin. Dies könnte durchaus Ausdruck einer anderen physiologischen Funktion sein, alternativ könnte die hohe Konserviertheit von Lys 54 unter den mit Bet v 1 verwandten Allergenen allerdings auch lediglich durch die geringe Wahrscheinlichkeit einer wegen der vielleicht bedeutsamen strukturellen Rolle der Salzbrücke mit Asp 27 notwendigen korrelierten Mutation bedingt sein.

Zusammenfassend muss zunächst einmal festgestellt werden, dass leider auch im Rahmen dieser Arbeit die physiologische Funktion der mit Bet v 1 verwandten Allergene nicht endgültig geklärt werden konnte. Allerdings wurde mit der Bindung von 28-Homocastasteron an Pru av 1 wt (Abschnitt 4.2.1; Neudecker et al. 2001a) zum ersten Mal eine Wechselwirkung eines mit Bet v 1 verwandten Allergens mit einem potentiell physiologisch relevanten niedermolekularen organischen Liganden experimentell nachgewiesen und dadurch die Suche nach der physiologischen Funktion der mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine in eine Richtung gewiesen, die wie die Entdeckung der Katalyse der Biosynthese des organischen Wirkstoffs Hypericin durch Hyp-1 zeigt sehr vielversprechend ist. An dieser Stelle sei aber noch einmal darauf hingewiesen, dass wie bereits in Abschnitt 1.2.1.4 festgestellt die bei den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen zu beobachtende Isoformenvielfalt neben einer Erleichterung der gewebe- und stimulusspezifischen Regulation der Expression auch Ausdruck mehrerer verschiedener miteinander verwandter physiologischer Funktionen sein könnte.

## 5.4 Analyse der kreuzreaktiven IgE-Epitope von Pru av 1 und Api g 1.0101

# 5.4.1 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Mutanten von Pru av 1 und Api g 1.0101

Zu den aus medizinischer Sicht interessantesten strukturbiologischen Fragestellungen in Hinblick auf ein Allergen wie Pru av 1 zählt zweifellos die Frage nach der Lage der in der Regel konformationellen IgE-Epitope auf der Moleküloberfläche, da deren Kenntnis wie bereits beschrieben die Grundlage der rekombinanten Herstellung von Allergenen zur Verbesserung der Diagnostik sowie der rekombinanten Herstellung von modifizierten Allergenen als Impfstoffe zur Reduzierung anaphylaktischer Nebenwirkungen bei der spezifischen Immuntherapie darstellt und zudem die Analyse der klinisch beobachteten Kreuzreaktivitätsmuster sowie die Bewertung des Allergierisikos experimentell noch wenig untersuchter Nahrungsmittel erleichtert (Abschnitt 1.1.3). Auf der Grundlage der damals bekannten experimentellen Daten, wie in Abschnitt 1.2.1.3 beschrieben insbesondere der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 im Komplex mit dem Fab des monoklonalen IgG-Antikörpers BV16 einer Maus (Spangfort et al. 1999; Mirza et al. 2000, PDB-Kennung 1FSK), der reduzierten IgE-Reaktivität der Mutanten Bet v 1.2801 N28T,K32Q,E45S,P108G (Holm et al. 2000, PDB-Kennung 1QMR), Pru av 1 G46P und Pru av 1 AT52 (Scheurer et al. 1999) sowie der unvollständigen Kreuzreaktivität der verschiedenen Isoformen von Api g 1 und Dau c 1 mit den verschiedenen Isoformen von Bet v 1 und Pru av 1 wt (Moneo et al. 1999; Hoffmann-Sommergruber et al. 2000; Neudecker et al. 2001a; Ballmer-Weber et al. 2001; Vieths et al. 2002b), war von uns der Bereich der P-Schleife um Glu 45 als kreuzreaktives Epitop von Pru av 1 vorgeschlagen worden (Scheurer et al. 1999; Neudecker et al. 2001a). Zusätzlich dazu war basierend auf Mutationsstudien an der wenig IgE-reaktiven Isoform Bet v 1.0401 (Ferreira et al. 1998), an Mal d 1 (Son et al. 1999; Ferreira et al. 2000) und an Api g 1.0101 (Ferreira et al. 2000) auch ein Bereich auf den benachbarten Faltblattsträngen  $\beta_1$  und  $\beta_7$  um Thr 10 bzw. Ser 112 als IgE-Epitop von Pru av 1 wt vorgeschlagen worden (Scheurer et al. 1999).

Um diese Hypothesen zu verifizieren, untersuchten wir die Mutanten Pru av 1 E45W, für deren große hydrophobe Seitenkette an Sequenzposition 45 wir einen negativen Einfluss auf die Affinität der Bindung von IgE-Antikörpern an die P-Schleife erwarteten, Pru av 1 S112A und Pru av 1 S112P. Außerdem wurde eine Deletionsmutante von Pru av 1 ohne seine fünf COOH-terminalen Reste 155 bis 159 mit in die Studie einbezogen, weil die äquivalenten fünf COOH-terminalen Reste von Api g 1.0201 bei Api g 1.0101, Dau c 1.0105 und Dau c 1.0201 nicht vorhanden sind (Abb. 1.1). Da eine bestimmte Mutation die IgE-Bindung entweder durch eine vollständige Zerstörung der Tertiärstruktur oder durch eine lokale Veränderung der Tertiärstruktur oder aber nur durch die Veränderung der biophysikalischen Eigenschaften der mutierten Seitenkette beeinflussen kann und ein Verlust der IgE-Reaktivität bei einer die Tertiärstruktur vollständig zerstörenden Mutation ganz offensichtlich keine weiteren Rückschlüsse auf die IgE-Epitope erlaubt als dass diese konformationeller Natur sind, wurden diesmal im Gegensatz zu den genau aus diesem Grund nicht abschließend zu interpretierenden früheren Mutationsstudien an Pru av 1 (Scheurer et al. 1999) in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. S. Vieths von der Abteilung Allergologie des Paul-Ehrlich-Instituts in Langen parallel sowohl die IgE-Reaktivität als auch die dreidimensionale Struktur dieser Mutanten untersucht.

Die für ein im Wesentlichen unstrukturiertes Protein typischen CD- (Abb. 4.10) und 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren (Abb. 4.11) bestätigten die bereits in Abschnitt 1.2.1.3 erwähnte Vermutung, dass die drastisch reduzierte IgE-Reaktivität von Pru av 1 S112P (Scheurer et al. 1999; Abb. 5.1) die Folge einer praktisch vollständigen Zerstörung der Tertiärstruktur durch diese Punktmutation darstellt und daher keine detaillierten Rückschlüsse auf die Lage der IgE-Epitope erlaubt. Die CD- (Abb. 4.10) und 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren (Abb. 4.11) der anderen Mutanten Pru av 1 S112A, E45W und  $\Delta$ 155-159 hingegen sind fast identisch mit denen von Pru av 1 wt und konsistent mit ihrer gemischten  $\alpha/\beta$ -Sekundärstruktur (Abb. 1.2), so dass diese Mutationen ganz offensichtlich keinen großen Einfluss auf die globale Faltung von Pru av 1 haben. Auch das 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Api g 1.0101 wt (Abb. 4.12) ist ebenfalls konsistent mit der auf Grund der hohen Sequenzidentität (Abb. 1.1 und Abb. 1.4) zu erwartenden ähnlichen Sekundär- und Tertiärstruktur wie bei Bet v 1, Pru av 1 wt, Glym 4, LIPR10.1a und LIPR10.1b (Abschnitt 4.6.4).

## 5.4.2 Immunologische Charakterisierung

Die Bindung der IgE-Antikörper aus dem Serum von 15 Kirschallergikern an Pru av 1 wt, E45W, S112A, S112P und  $\Delta$ 155-159 wurde mit Hilfe so genannter Enzyme Allergosorbent Tests (EASTs) untersucht (Neudecker et al. 2003b). Während das im Wesentlichen unstrukturierte (Abb. 4.10 und Abb. 4.11) Pru av 1 S112P lediglich bei einem Patienten eine ähnliche IgE-Reaktivität zeigte wie Pru av 1 wt, bei sieben Patienten hingegen eine deutlich geringere und bei den restlichen sieben Patienten sogar praktisch gar keine, beeinflusste weder die Mutation des Serins an Sequenzposition 112 zu einem Alanin noch die Deletion der fünf COOH-

terminalen Aminosäuren 155-159 die IgE-Reaktivität von Pru av 1 wt merklich (Abb. 5.1). Die Hydroxylgruppe von Ser 112, die zwar sowohl bei Bet v 1 (Gajhede et al. 1996, PDB-Kennungen 1BV1 und 1BTV; Faber 1996; Faber et al. 1996; Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000, PDB-Kennung 1B6F; Markovic-Housley et al. 2003, PDB-Kennung 1FM4) als auch bei Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2001; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) nicht in das Lösungsmittel hineinragt, allerdings durchaus lösungsmittelexponiert ist und daher entweder direkt oder indirekt über Wassermoleküle an der Antikörper-Antigen-Kontaktfläche durchaus eine potentielle Wechselwirkungsstelle darstellt, scheint folglich nicht zu den IgE-Epitopen von Pru av 1 beizutragen. Da auch die Mutationen T10P und I113V die IgE-Reaktivität von Pru av 1 nicht negativ beeinflussten (Scheurer et al. 1999), scheint der als IgE-Epitop von Bet v 1 (Ferreira et al. 1998), Mal d 1 (Son et al. 1999; Ferreira et al. 2000) und Api g 1.0101 (Ferreira et al. 2000) beschriebene Bereich auf den benachbarten Faltblattsträngen  $\beta_1$  und  $\beta_7$  um Thr 10 bzw. Ser 112 kein klinisch relevantes kreuzreaktives IgE-Epitop von Pru av 1 darzustellen. Außerdem dürfte der um fünf Reste verkürzte COOH-Terminus von Api g 1.0101 und von den verschiedenen Isoformen von Dau c 1 (Abb. 1.1) nicht die Ursache der unvollständigen Kreuzreaktivität der verschiedenen Isoformen von Api g 1 und Dau c 1 mit den verschiedenen Isoformen von Bet v 1 und Pru av 1 wt (Moneo et al. 1999; Hoffmann-Sommergruber et al. 2000; Neudecker et al. 2001a; Ballmer-Weber et al. 2001; Vieths et al. 2002b) sein, insbesondere nicht die Ursache der unvollständigen Inhibition der IgE-Bindung an Pru av 1 wt durch Api g 1.0101 (Abb. 1.3), da die Deletion der fünf COOH-terminalen Reste 155-159 von Pru av 1 nicht mit einer reduzierten IgE-Reaktivität verbunden ist (Abb. 5.1).



Abb. 5.1 EAST-Vergleich der IgE-Reaktivität von Pru av 1 wt und seinen Mutanten anhand von 15 Sera von Kirschallergikern sowie von Api g 1.0101 wt und K44E anhand von neun Sera von Sellerieallergikern durch IgE-ELISA (Neudecker et al. 2003b). Während Pru av 1 S112A und Pru av 1 Δ155-159 bei allen Patienten praktisch die gleiche IgE-Reaktivität zeigen wie Pru av 1 wt (alle 15 Rauten nahe an der Diagonale), ist die IgE-Reaktivität des im Wesentlichen ungefalteten Pru av 1 S112P (Abb. 4.10 und Abb. 4.11) drastisch reduziert (alle 15 Symbole in der Regel deutlich unterhalb der Diagonale), d. h. die IgE-Epitope von Pru av 1 dürften vorwiegend konformationeller denn sequentieller Natur sein. Die Veränderung der IgE-Reaktivität von Pru av 1 durch die Mutationen E45W und von Api g 1.0101 durch die Mutation K44E hingegen ist stark patientenspezifisch (mehrere der 15 Rauten jeweils oberhalb, unterhalb und in der Nähe der Diagonale).

Ein weitaus differenzierteres Bild ergab sich bei Pru av 1 E45W, dessen IgE-Reaktivität im Vergleich zu Pru av 1 wt bei zwei Patienten leicht erhöht war, bei vier Patienten praktisch unverändert und bei den restlichen neun Patienten zum Teil deutlich reduziert (Abb. 5.1). Im Gegensatz zu Pru av 1 wt (Positivkontrolle), S112A und  $\Delta$ 155-159 konnte durch Präinkubation mit Pru av 1 E45W auch die Bindung der IgE-Antikörper aus einem Pool von Sera von drei (Bo111, PEI82 und PEI97) dieser neun Patienten mit im Vergleich zu Pru av 1 wt reduzierter IgE-Reaktivität gegen Pru av 1 E45W an Pru av 1 wt in einer dosisabhängigen EAST-Inhibition nur teilweise inhibiert werden (Abb. 5.2), d. h. Pru av 1 wt muss mindestens ein IgE-Epitop besitzen, dass von Pru av 1 E45W nicht mehr präsentiert wird. Zwar konnte anhand der mit denen von Pru av 1 wt fast identischen CD- (Abb. 4.10) und 1D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren (Abb. 4.11) von Pru av 1 E45W ausgeschlossen werden, dass dies die Folge einer global veränderten oder gar vollständig zerstörten Sekundär- und Tertiärstruktur ist, der Informationsgehalt dieser Spektren reichte jedoch nicht zur Klärung der Frage aus, ob die Mutation E45W die Sekundär- und Tertiärstruktur von Pru av 1 lokal verändert oder ob bereits die ver-



änderten biophysikalischen Eigenschaften der Seitenkette an Sequenzposition 45 für die Zerstörung eines hypothetischen direkt an der P-Schleife befindlichen IgE-Epitops ausreichen.

Abb. 5.2 EAST-Inhibition der Bindung der IgE-Antikörper aus einem Pool von Sera von drei Kirschallergikern an Pru av 1 wt durch Präinkubation mit zunehmenden Konzentrationen an Pru av 1 wt (Positivkontrolle), S112A, Δ155-159 und E45W (Neudecker et al. 2003b). Präinkubation mit Pru av 1 Δ155-159 inhibiert die IgE-Bindung an Pru av 1 wt ähnlich gut wie mit Pru av 1 wt (etwa 85 % Inhibition bei der höchsten getesteten Inhibitorkonzentration), die geringfügig niedrigere Inhibition mit Pru av 1 S112A ist höchstwahrscheinlich ein durch die unvollständige Reinheit der verwendeten Probe von lediglich etwa 88 % verursachtes Artefakt (Neudecker et al. 2003b). Durch Präinkubation mit Pru av 1 E45W hingegen erreicht man nur eine weit niedrigere Inhibition der IgE-Bindung an Pru av 1 wt (etwa 32 % Inhibition bei der höchsten getesteten Inhibitorkonzentration).

# 5.4.3 Strukturbestimmung von Pru av 1 E45W und Implikationen für die immunologische Bedeutung der P-Schleife

Zur Klärung dieser Frage wurde daher eine [U-99% <sup>15</sup>N]-markierte Probe von Pru av 1 E45W hergestellt (Abschnitt 3.1.1) und mit Hilfe mehrdimensionaler heteronuklearer NMR-Spektroskopie untersucht (Tab. 3.1; Abschnitt 4.5.2). Bei der sequenzspezifischen Zuordnung der Resonanzen stellte sich heraus, dass die gemessenen 2D- und 3D-NMR-Spektren von Pru av 1 E45W (Tab. 3.1) mit Ausnahme der Resonanzen von sieben unmittelbar im Bereich der P-Schleife befindlichen Resten mit den an Pru av 1 wt gemessenen NMR-Spektren (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a) praktisch identisch waren (Abschnitt 4.5.2.1), so dass eine über die P-Schleife hinausgehende Veränderung der Sekundär- und Tertiärstruktur gegenüber Pru av 1 wt angesichts der hoch empfindlichen Abhängigkeit der chemischen Verschiebungen insbesondere der Amidresonanzen (Abb. 4.13) und Alphaprotonenresonanzen von der Konformation des Proteinrückgrats (zusammengefasst in Wishart und Case 2001) endgültig ausgeschlossen werden konnte und die dreidimensionale Struktur von Pru av 1 E45W nur in diesem Bereich mit Hilfe zusätzlicher experimenteller Randbedingungen (Abschnitt 4.5.2.2) neu bestimmt werden musste. Ein Vergleich der berechneten Strukturen von Pru av 1 E45W (Abschnitt 4.5.2.3; Neudecker et al. 2003b, PDB-Kennung 1H2O) mit denen von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a, PDB-Kennung 1E09) zeigte, dass die Mutation E45W die Konformation des Proteinrückgrats von Pru av 1 auch im Bereich der P-Schleife nicht beeinflusst und dass sogar die Seitenkettenposition von Glu 45 und Trp 45 ähnlich ist (Abb. 4.14), was die veränderten biophysikalischen Eigenschaften der mutierten Seitenkette an Sequenzposition 45 als einzigen deutlichen Unterschied zwischen Pru av 1 wt und Pru av 1 E45W übrig lässt. Die patientenspezifische Modulation der IgE-Reaktivität (Abb. 5.1 und Abb. 5.2) dürfte daher auf die Seitenkette von Trp 45 zurückzuführen sein, was einen gewichtigen experimentellen Beleg für unsere These liefert, dass Glu 45 in der Tat einen Schlüsselrest eines der kreuzreaktiven Epitope von Pru av 1 wt darstellt. Diese Schlussfolgerung wird noch dadurch unterstrichen, dass die Patienten Bo111 und PEI82, deren Sera nicht mehr mit Pru av 1 G46P und  $\Delta$ T52 reagierten (Scheurer et al. 1999), sich auch bei Einführung der Mutation E45W unter den Patienten mit der deutlichsten Reduzierung der IgE-Reaktivität befanden (siehe oben).

Dass es sich bei dieser experimentellen Verifikation unserer Hypothese, dass der Bereich der P-Schleife um Glu 45 eines der Epitope darstellt, die zur Kreuzreaktion von ursprünglich für das natürliche Isoformengemisch von Bet v 1 spezifischen IgE-Antikörpern mit Pru av 1 wt führen, keineswegs um eine Trivialität handelt, zeigt schon allein die Tatsache, dass die mit dem an die P-Schleife von Bet v 1.2801 bindenden monoklonalen IgG-Antikörper BV16 einer Maus (Spangfort et al. 1999; Mirza et al. 2000, PDB-Kennung 1FSK) durchgeführten Bindungsstudien trotz der bei den mit Bet v 1 verwandten Allergenen hochkonservierten Kontaktfläche (Abschnitt 1.2.1.3) überraschenderweise sowohl bei Pru av 1 wt (Neudecker et al. 2003b) als auch bei zwei Isoformen von Mal d 1 (Holm et al. 2001) negativ verliefen. Unsere ursprüngliche Vermutung, der monoklonale IgG-Antikörper BV16 würde mit der P-Schleife von Pru av 1 wt kreuzreagieren, stellte sich also als falsch heraus, wohingegen wir unsere nicht zuletzt auch von dieser Vermutung stimuliert aufgestellte Hypothese von der P-Schleife um Glu 45 als kreuzreaktivem IgE-Epitop von Pru av 1 wt experimentell bestätigen konnten. Die Bindung des monoklonalen IgG-Antikörpers BV16 an eine Isoform von Mal d 1 konnte übrigens in einer vor kurzem durchgeführten Studie wie erwartet durch Einführung von fünf Punktmutationen, so dass alle 15 Reste der Kontaktfläche mit denen von Bet v 1.2801 identisch sind, wiederhergestellt werden (Holm et al. 2003). Diese fünf Punktmutationen steigerten zudem die Ausschüttung von Histamin aus menschlichen Basophilen im Reagenzglas von 0 % auf 100 % relativ zu Bet v 1.2801, wenn auch erst bei der vierfachen Konzentration (Holm et al. 2003), was zusätzlich zu der bereits in Abschnitt 1.2.1.3 erwähnten hohen Fähigkeit des monoklonalen IgG-Antikörpers BV16 zur Inhibition der Bindung von IgE-Antikörpern aus dem Serum allergischer Patienten an Bet v 1.2801 (Mirza et al. 2000) einen weiteren experimentellen Beleg für die vermutlich auch klinisch hohe Relevanz des Bereichs der P-Schleife als potentiell kreuzreaktives IgE-Epitop von Bet v 1 darstellt.

Leider enthält die PDB zum Zeitpunkt des Schreibens dieser Arbeit noch keine dreidimensionale Struktur von Api g 1.0101 in atomarer Auflösung. Das in Abb. 5.3 dargestellte mit Hilfe von SWISS-MODEL (Guex und Peitsch 1997) auf der Basis von drei Kristallstrukturen von Bet v 1 (Holm et al. 2000, PDB-Kennung 1QMR; Mirza et al. 2000, PDB-Kennung 1FSK; Gajhede et al. 1996, PDB-Kennung 1BV1) erstellte Homologiemodell von Api g 1.0101, das in Sybyl 6.5 (Tripos Inc., St. Louis, MO, USA) nach dem Ansetzen von Wasserstoffatomen 100 Schritten Energieminimierung mit dem Tripos-Kraftfeld unterworfen wurde, sagt für die im Vergleich zu Bet v 1.2801, Pru av 1 wt und Gly m 4 um einen Rest verkürzte (Abb. 1.1) P-Schleife vorher, dass Lys 44 einfach den Faltblattstrang  $\beta_2$  um einen Rest verlängert und so die kleine von Ile 44 bzw. Leu 44 und Glu 45 gebildete Ausbauchung überbrückt, die bei Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt die P-Schleife einleitet, was durchaus plausibel erscheint. In diesem Modell kommt die lösungsmittelexponierte Seitenkette von Lys 44 in etwa zwischen den beiden Seitenketten von Ile 44 bzw. Leu 44 und Glu 45 von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt zu liegen, allerdings seitlich etwas versetzt (Abb. 5.3). Da der Bereich der P-Schleife um Glu 45 als eines der kreuzreaktiven IgE-Epitope von Bet v 1 und Pru av 1 wt identifiziert werden konnte (siehe oben), dürfte dieser strukturelle Unterschied zwischen Bet v 1 und Pru av 1 wt einerseits und Api g 1.0101 andererseits eine der Ursachen, wenn nicht sogar die Hauptursache, für die unvollständige Inhibition der IgE-Bindung an Pru av 1 wt durch Präinkubation mit Api g 1.0101 (Abb. 1.3) und die im Vergleich zu den anderen mit Bet v 1 verwandten Nahrungsmittelallergenen generell relativ niedrige IgE-Reaktivität von Api g 1.0101 (Scheurer et al. 1999) darstellen.

## 5. Diskussion



Abb. 5.3 Überlagerung des Proteinrückgrats des Homologiemodells von Api g 1.0101 (weiß) mit dem der Kristallstruktur von Bet v 1.2801 (orange), der Struktur von Pru av 1 wt mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion E<sub>pot</sub> (grün) und dem Homologiemodell von Gly m 4 nach Energieminimierung mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen (rot). Die Ansicht ist ähnlich wie in Abb. 1.2, Abb. 4.5 bis Abb. 4.9, Abb. 4.14, Abb. 4.21 und Abb. 4.24. Ebenfalls dargestellt sind die Seitenketten von Ile 43 und Lys 44 (Api g 1.0101), Asn 43 bis Glu 45 (Bet v 1.2801), Ile 43 bis Glu 45 (Pru av 1 wt) sowie Asn 42 bis Glu 44 (Gly m 4). Während sich die Seitenkette von Ile 43 von Api g 1.0101 noch an der gleichen Position befindet wie die äquivalenten Seitenketten der anderen drei Allergene, verlängert Lys 44 den Faltblattstrang  $\beta_2$  um einen Rest und überbrückt so die kleine von Ile 44 bzw. Leu 44 und Glu 45 gebildete Ausbauchung, die bei Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt die P-Schleife einleitet. Dadurch kommt die lösungsmittelexponierte Seitenkette von Lys 44 in etwa zwischen den beiden Seitenketten von Ile 44 bzw. Leu 44 und Glu 45 von Bet v 1.2801 und Pru av 1 wt zu liegen, allerdings stärker seitlich versetzt, als es in der dargestellten Ansicht erscheint. Das konservierte Glycin an Sequenzposition 45 von Api g 1.0101 kann diese von Bet v 1.2801, Pru av 1 wt und Gly m 4 abweichende Konformation auf Grund seiner Flexibilität problemlos in die bei allen vier Allergenen gleiche Konformation der restlichen P-Schleife überführen.

Da die Seitenkette von Lys 44 von Api g 1.0101 nach diesem Modell lösungsmittelexponiert ist, lag es nahe, die Auswirkungen der Wiedereinführung der negativen Ladung durch die Mutation K44E auf die IgE-Reaktivität zu untersuchen. Während bei drei der untersuchten neun Patienten keine signifikante Veränderung der IgE-Reaktivität festzustellen war, zeigten drei weitere Patienten in der Tat eine im Vergleich zu Api g 1.0101 wt deutlich erhöhte IgE-Reaktivität (Abb. 5.1), was einen weiteren experimentellen Beleg für die Schlüsselrolle der Seitenkette von Glu 45 in einem der kreuzreaktiven IgE-Epitope von Bet v 1 und Pru av 1 wt darstellt. Interessanterweise führte die Mutation K44E jedoch bei den restlichen drei Patienten

zu einer teilweise sogar deutlichen Reduzierung der IgE-Reaktivität von Api g 1.0101, d. h. diese Patienten scheinen für die verkürzte P-Schleife von Api g 1.0101 spezifische IgE-Antikörper zu besitzen. Da Glu 45 bei fast allen der normalerweise für die ursprüngliche Sensibilisierung verantwortlichen Isoformen der Pollenallergene Bet v 1 (Breiteneder et al. 1989; Swoboda et al. 1995a; Swoboda et al. 1995b; Hoffmann-Sommergruber et al. 1997; Larsen et al., unveröffentlicht), Aln g 1 (Breiteneder et al. 1992), Car b 1 (Larsen et al. 1992) und Cor a 1 (Breiteneder et al. 1993) konserviert ist, scheint bei diesen drei Patienten also entweder die ursprüngliche oder eine zusätzliche spätere Sensibilisierung gegen die verkürzte P-Schleife von Api g 1.0101 oder eine der Varianten von Dau c 1.01 stattgefunden zu haben. Diese nicht unmittelbar pollenassoziierte Sensibilisierung gegen die verkürzte P-Schleife dürfte zumindest eine der Ursachen für die bereits in Abschnitt 1.2.1.3 erwähnte Beobachtung darstellen, dass sich im Gegensatz zu Api g 1.0201 (Hoffmann-Sommergruber et al. 2000), wo Glu 45 konserviert ist (Abb. 1.1), die IgE-Bindung an das natürliche Isoformengemisch von Dau c 1 zwar durch Api g 1.0101 vollständig inhibieren ließ, aber weder durch Bet v 1.0101 noch durch Birkenpollenextrakt (Moneo et al. 1999; Ballmer-Weber et al. 2001). Sie passt auch gut zu der Erfahrung, dass das natürliche Isoformengemisch von Api g 1 etwas resistenter gegen Verdauung zu sein scheint als die anderen mit Betv1 verwandten Nahrungsmittelallergene und daher auch ein Stück weit den Charakter eines echten, d. h. nicht ausschließlich pollenassoziierten Nahrungsmittelallergens besitzt, der in der vergleichsweise großen Häufigkeit anaphylaktischer Reaktionen zum Ausdruck kommt (zusammengefasst in Vieths et al. 2002a).

Die Analyse der IgE-Epitope von Pru av 1 wt und Api g 1.0101 auf der Grundlage der parallelen Untersuchung der IgE-Reaktivität und der dreidimensionalen Struktur ausgewählter Mutanten lieferte also die Erklärung für wesentliche Aspekte der klinisch beobachteten Kreuzreaktionsmuster auf mit Bet v 1 verwandte Nahrungsmittelallergene, was für die Erstellung detaillierterer Diagnosen zweifellos hilfreich ist. Darüber hinaus stellen Schlüsselreste bekannter IgE-Epitope ganz offensichtlich vielversprechende Mutationskandidaten für die rekombinante Herstellung von modifizierten Allergenen als Impfstoffe zur Reduzierung anaphylaktischer Nebenwirkungen bei der spezifischen Immuntherapie dar (Valenta und Kraft 1995; Valenta et al. 1999), solange die von den Proteasen der Antigen-präsentierenden Zellen des Immunsystems aus diesen modifizierten Allergenen hergestellten Peptide noch von den T<sub>H</sub>-Lymphozyten erkannt werden (Abschnitt 1.1.1). Dabei sollte jedoch beachtet werden, dass die genaue Beschaffenheit der IgE-Epitope patientenspezifisch ist, so dass eine solche Punktmutation zumindest bei manchen Patienten auch eine Erhöhung der IgE-Reaktivität bewirken kann, wie man im Fall von Pru av 1 E45W und Api g 1.0101 K44E deutlich sieht (Abb. 5.1), obwohl die von uns ausgewählte Mutation E45W rein synthetisch ist und die mit Bet v 1 verwandten Allergene in aller Regel kein Tryptophan enthalten (Abb. 1.1). Bei Allergenen mit vorwiegend konformationellen IgE-Epitopen könnte es daher vielversprechender sein, hypoallergene Varianten durch irreversible Zerstörung der nativen Faltung wie im Falle von Pru av 1 S112P herzustellen als durch Mutation aller bekannten oder vermuteten IgE-Epitope bei Aufrechterhaltung der nativen Tertiärstruktur. Dieser Ansatz hat jedoch den Nachteil, dass denaturierte Proteine häufig schlecht löslich sind und zur Aggregation neigen, ganz zu schweigen von ihrer niedrigen Stabilität gegenüber Proteasen, was entsprechende Probleme im Bereich der Herstellung, Lagerung und Handhabung solcher Impfstoffe nach sich zieht. Gegenüber den bisher üblichen chemisch modifizierten Allergoiden aus natürlichen Allergenextrakten haben rekombinante Impfstoffe trotzdem ganz generell den großen Vorteil der weitaus besser definierten und daher auch leichter standardisierbaren Zusammensetzung.

## 5.5 Strukturbestimmung von Gly m 4

### 5.5.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen

Im Vergleich zur Strukturbestimmung von Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a) wurden zur Strukturbestimmung von Gly m 4 im Rahmen dieser Arbeit einige zusätzliche NMR-Experimente durchgeführt, insbesondere die Tripelresonanzexperimente HBHA(CBCACO)NH, H(CCO)NH und C(CO)NH (Tab. 3.1), die die Redundanz der zur sequenzspezifischen Zuordnung benötigten spektralen Informationen und damit ihre Zuverlässigkeit deutlich erhöhten. Außerdem waren zumindest die doppelt markierten Proben D durch die Reinigung mit Hilfe der Reversed-Phase-Chromatographie (Abschnitt 3.1.1) praktisch völlig frei von Abbauprodukten (Abb. 4.13 im Vergleich zu Neudecker 2000, Abb. 5.1; Neudecker et al. 2000, Abb. 1) und durch die teilweise höhere Konzentration und die teilweise Verwendung einer höheren Feldstärke (Resonanzfrequenz der <sup>1</sup>H-Kerne 750,13 MHz ) konnten alle NMR-Experimente einschließlich des besonders kritischen <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-NOESY-HSQC mit gutem Signal-Rausch-Verhältnis aufgenommen werden. Hinzu kommt die verbesserte Auflösung bei der höheren Feldstärke, insbesondere in der indirekten <sup>13</sup>C-Dimension F1 des <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC (Tab. 3.1; Abb. 4.16 und Abb. 4.17 im Vergleich zu Neudecker 2000, Abb. 5.2 und Abb. 5.3), wo die erreichbare Auflösung durch die Länge der zur homonuklearen <sup>13</sup>C-Entkopplung notwendigen Constant-Time-Evolutionsperiode (Vuister und Bax 1992) beschränkt ist. Aus diesen Gründen konnte die Vollständigkeit der sequenzspezifischen Zuordnung von Gly m 4 gegenüber Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000, BMRB-Kennung 4671) noch einmal deutlich gesteigert werden. Die insgesamt 1677 eindeutig zugeordneten chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- und <sup>15</sup>N-Kerne von Gly m 4 (Abschnitt 4.6.1; Neudecker et al. 2003a, BMRB-Kennung 5606) sind insofern als fast vollständig anzusehen, als mit Ausnahme der Seitenkette von Lys 136, wo die hohe spektrale Überlappung die eindeutige Identifizierung der Protonenresonanzen der H $\gamma$ - und H $\delta$ -Methylengruppe verhinderte, alle Resonanzen sequenzspezifisch zugeordnet werden konnten, die nicht entweder den gemessenen NMR-Spektren grundsätzlich nicht zu entnehmen waren (beispielsweise die der nicht durch eine Peptidbindung kovalent mit einer Amidgruppe verbundenen CO-Atome von Aminosäuren mit einem Prolin als Nachfolger, die im HNCO nicht sichtbar sind, oder die aromatischen <sup>13</sup>C-Resonanzen, die zur Vermeidung von Phasenfehlern der aliphatischen <sup>13</sup>Cβ-Resonanzen wie in Abschnitt 3.1.2 beschrieben bandselektiv entkoppelt wurden) oder von unter den gewählten Pufferbedingungen zu schnell mit dem Lösungsmittel austauschenden Protonen stammen (insbesondere von den Protonen der funktionellen Gruppen der meisten polaren Seitenketten). Im Gegensatz zu Bet v 1.0101 M139L (Schweimer et al. 1999; Schweimer 2000, BMRB-Kennung 4417) und Pru av 1 wt (Neudecker 2000; Neudecker et al. 2000, BMRB-Kennung 4671) konnten bei Gly m 4 auch die Resonanzen der Schleife zwischen den Faltblattsträngen  $\beta_3$  und  $\beta_4$  ohne Schwierigkeiten identifiziert werden. Die Ursache dafür dürfte eine etwas regulärere Hairpin-Konformation dieser Schleife bei Gly m 4 (Abb. 4.24) darstellen, wohingegen die signifikant erhöhe interne Flexibilität ihres Proteinrückgrats bei Pru av 1 wt (Abschnitt 4.1) die sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen in diesem Bereich durch Beschleunigung des Amidprotonenaustauschs mit dem Lösungsmittel behinderte (Neudecker 2000, Abschnitt 6.4; Neudecker et al. 2000; Neudecker et al. 2001a).

## 5.5.2 Experimentelle Strukturinformationen und Homologiemodellierung

Auf der Grundlage dieser sequenzspezifischen Zuordnung der Resonanzen von Gly m 4 konnten mit 64 Beschränkungen der Diederwinkel aus den 89 bestimmten skalaren Kopplungskonstanten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  (Abschnitt 4.6.2.1), 118 dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  (Abschnitt 4.6.2.2) und 141 Paare von chemischen Verschiebungen der  ${}^{13}C\alpha$ - und  ${}^{13}C\beta$ -Kerne (Abschnitt 4.6.2.3) bereits eine Reihe von experimentellen Randbedingungen gesammelt werden. Leider war die Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von Gly m 4 in atomarer Auflösung einschließlich der realistischerweise etwa drei Monate Arbeitszeit in Anspruch nehmenden iterativen Gewinnung von Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen (Abschnitt 3.1.5.1) im zeitlichen Rahmen dieser Arbeit nicht mehr vollständig durchführbar. Die Analyse der chemischen Verschiebungen der H $\alpha$ -, C $\alpha$ - und CO-Atome, der skalaren Kopplungskonstanten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  sowie der dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  (Abschnitt 4.6.2.4) zeigte jedoch, dass die Sekundärstruktur und damit vermutlich auch die Tertiärstruktur von Gly m 4 mit der von Bet v 1 und Pru av 1 wt (Abb. 1.1 und Abb. 1.2) praktisch identisch ist. Daher wurde ein Homologiemodell von Gly m 4 erstellt, das die 118 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  auch tatsächlich bereits bis zu einem Qualitätsfaktor von Q=49,5% erfüllte (Abschnitt 4.6.3).

# 5.5.3 Anwendbarkeit des Least-Squares-Fits zur Bestimmung des Vorzugsorientierungstensors

Bei der Berechnung dieses Qualitätsfaktors fiel jedoch auf, dass die durch einen linearen Least-Squares-Fit in der irreduziblen sphärischen Darstellung bestimmte (Abschnitt 3.1.5.4.1) Anisotropie  $D_a$  des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  gegenüber dem aus den Extremwerten der gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  geschätzten (Abschnitt 3.1.5.4.2) wahren Wert um einen Faktor 0,73 unterschätzt wurde (Abschnitt 4.6.3). Die Ursache dafür ist methodisch bedingt und wurde bereits von Zweckstetter und Bax (2002) anhand von numerischen Simulationen entdeckt, lässt sich jedoch unter vereinfachenden Annahmen auch analytisch verstehen, wie im Folgenden kurz skizziert werden soll. Betrachten wir der Einfachheit halber einen an einem Molekül mit axialsymmetrischem Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  mit der Anisotropie  $D_a^0$  und der Rhombizität  $R^0=0$  gemessenen Satz von N dipolaren Kopplungskonstanten und nehmen wir an, die Orientierung seines Hauptachsensystems sei bekannt. Im Idealfall ist die wahre Struktur des Moleküls mit den Polarwinkeln  $\theta_i^0$  der mittleren Abstandsvektoren der jeweils gekoppelten zwei Kernspins in diesem Hauptachsensystem bekannt und die dipolaren Kopplungskonstanten  $D_i^0 = D_a^0(3\cos^2\theta_i^0 - 1)$  können exakt gemessen werden. Der Least-Squares-Fit bestimmt  $D_a$  durch Minimierung der Größe

$$\Delta^{2} = \sum_{i} \left( D_{i}^{0} - D_{a} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}$$
  
= 
$$\sum_{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) - D_{a} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}$$
(5.1)

über

$$\frac{\partial \Delta^2}{\partial D_a} = -2\sum_i \left( D_a^0 \left( 3\cos^2\theta_i^0 - 1 \right) - D_a \left( 3\cos^2\theta_i^0 - 1 \right) \right) \left( 3\cos^2\theta_i^0 - 1 \right) = 0$$
(5.2)

korrekterweise zu

$$D_{a} = D_{a}^{0} \frac{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right)^{2}}{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right)^{2}} = D_{a}^{0}$$
(5.3)

Der Qualitätsfaktor ist dann nach (3.14) gegeben durch

$$Q = \sqrt{\frac{\sum_{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) - D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}}{\sum_{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}} = 0}$$
(5.4)

Im Realfall allerdings sind sowohl die gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten als auch das Strukturmodell des Moleküls fehlerbehaftet. Der Messfehler der dipolaren Kopplungskonstanten  $\delta_i$  mit  $\frac{1}{N}\sum_i \delta_i = 0$  und  $\frac{1}{N}\sum_i \delta_i^2 = \delta^2$  beeinträchtigt die Bestimmung der Anisotropie  $D_a$  glücklicherweise nicht, denn der Least-Squares-Fit bestimmt  $D_a$  durch Minimierung der Größe

$$\Delta^{2} = \sum_{i} \left( D_{i} - D_{a} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}$$
  
= 
$$\sum_{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) + \delta_{i} - D_{a} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}$$
(5.5)

über

$$\frac{\partial \Delta^2}{\partial D_a} = -2\sum_i \left( D_a^0 \left( 3\cos^2\theta_i^0 - 1 \right) + \delta_i - D_a \left( 3\cos^2\theta_i^0 - 1 \right) \right) \left( 3\cos^2\theta_i^0 - 1 \right) = 0 \quad (5.6)$$

wegen  $\frac{1}{N}\sum_{i} \delta_{i} = 0$  im statistischen Grenzfall korrekterweise zu

$$D_{a} = D_{a}^{0} \frac{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right)^{2} - \sum_{i} \delta_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right)}{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right)^{2}} = D_{a}^{0}$$
(5.7)

wenn die  $\delta_i$  und  $\theta_i^0$  statistisch unabhängig sind. Der Qualitätsfaktor ist dann nach (3.14) im statistischen Grenzfall unter der Annahme einer isotropen Verteilung der  $\theta_i^0$  auf der Einheitskugel mit  $\frac{1}{N} \sum_i \delta_i = 0$ ,  $\frac{1}{N} \sum_i \delta_i^2 = \delta^2$  und

$$\frac{1}{N}\sum_{i}\left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0}-1\right)^{2} = \frac{1}{4\pi}\int_{0}^{2\pi}d\phi\int_{0}^{\pi}d\theta\sin\theta\left(3\cos^{2}\theta-1\right)^{2} = \frac{4}{5}$$
(5.8)

gegeben durch

$$Q = \sqrt{\frac{\sum_{i}^{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) + \delta_{i} - D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}}{\sum_{i}^{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) + \delta_{i} \right)^{2}}}$$

$$= \sqrt{\frac{\sum_{i}^{i} \delta_{i}^{2}}{\sum_{i}^{i} \left( D_{a}^{0} \right)^{2} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right)^{2} + 2\sum_{i}^{i} D_{a}^{0} \delta_{i} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) + \sum_{i}^{i} \delta_{i}^{2}}}$$

$$= \frac{\delta}{\sqrt{\frac{4}{5} \left( D_{a}^{0} \right)^{2} + \delta^{2}}}$$
(5.9)

Dies gilt jedoch nicht mehr, wenn stattdessen das Strukturmodell des Moleküls fehlerbehaftet ist, also wenn die Polarwinkel der Abstandsvektoren zwischen den jeweils gekoppelten zwei Kernspins  $\theta_i$  von ihrem wahren mittleren Wert  $\theta_i^0$  abweichen. Dann nämlich bestimmt der Least-Squares-Fit  $D_a$  durch Minimierung der Größe

$$\Delta^{2} = \sum_{i} \left( D_{i}^{0} - D_{a} \left( 3\cos^{2}\theta_{i} - 1 \right) \right)^{2}$$
  
= 
$$\sum_{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) - D_{a} \left( 3\cos^{2}\theta_{i} - 1 \right) \right)^{2}$$
(5.10)

über

$$\frac{\partial \Delta^2}{\partial D_a} = -2\sum_i \left( D_a^0 \left( 3\cos^2\theta_i^0 - 1 \right) - D_a \left( 3\cos^2\theta_i - 1 \right) \right) \left( 3\cos^2\theta_i - 1 \right) = 0$$
(5.11)

zu

$$D_{a} = D_{a}^{0} \frac{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right) \left(3\cos^{2}\theta_{i} - 1\right)}{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i} - 1\right)^{2}}$$
(5.12)

Verwendet man wie in Abschnitt 3.1.5.4.1 das Additionstheorem für das zweite Legendre-Polynom  $P_2(\cos \theta_i) = \frac{1}{2} (3 \cos^2 \theta_i - 1)$  (Rose 1957, Abschnitt 14) und führt die Polarwinkel  $\theta_i^1$  und Azimutwinkel  $\phi_i^1$  der Abstandsvektoren zwischen den jeweils gekoppelten zwei Kernspins jeweils im Koordinatensystem des wahren mittleren Abstandsvektors ein, so erhält man

$$D_{a} = D_{a}^{0} \frac{\frac{8\pi}{5} \sum_{m=-2}^{2} \sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right) Y_{2m}^{*} \left(\theta_{i}^{0}; \phi_{i}^{0}\right) Y_{2m} \left(\theta_{i}^{1}; \phi_{i}^{1}\right)}{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i} - 1\right)^{2}}$$
(5.13)

Sind die  $(\theta_i^0; \phi_i^0)$  und die  $(\theta_i^1; \phi_i^1)$  statistisch unabhängig und ist die Verteilung der Abstandsvektoren zwischen den jeweils gekoppelten zwei Kernspins axialsymmetrisch um die wahren mittleren Abstandsvektoren, dann verschwinden im statistischen Grenzfall alle Terme

 $Y_{2m}(\theta_i^1;\phi_i^1)$  mit  $m \neq 0$  und es bleibt wegen  $Y_{20}(\theta;\phi) = \sqrt{\frac{5}{4\pi}} P_2(\cos\theta)$ 

$$D_{a} = D_{a}^{0} \frac{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1\right)^{2} P_{2}\left(\cos\theta_{i}^{1}\right)}{\sum_{i} \left(3\cos^{2}\theta_{i} - 1\right)^{2}}$$
(5.14)

Sind die  $(\theta_i^0; \phi_i^0)$  und die  $(\theta_i^1; \phi_i^1)$  statistisch unabhängig sowie die  $\theta_i^0$  und die  $\theta_i$  jeweils isotrop auf der Einheitskugel verteilt, so wird die Anisotropie im statistischen Grenzfall letztendlich zu

$$D_{a} = D_{a}^{0} \cdot \frac{1}{N} \sum_{i} P_{2} \left( \cos \theta_{i}^{1} \right) = S_{SN} D_{a}^{0}$$
(5.15)

bestimmt, also um den Ordnungparameter  $S_{SN} := \frac{1}{N} \sum_{i} P_2(\cos \theta_i^{-1})$  der Abweichungen der Abstandsvektoren zwischen den jeweils gekoppelten zwei Kernspins von den wahren mittleren Abstandsvektoren unterschätzt. Die Analogie zum in Abschnitt 3.1.5.4.1 eingeführten Ordnungsparameter *S* ist offensichtlich, allerdings beschreibt  $S_{SN}$  nicht etwa eine tatsächlich stattfindende interne Bewegung des Moleküls wie *S*, sondern den Fehler des Strukturmodells des Moleküls. Der Qualitätsfaktor ist dann nach (3.14) im statistischen Grenzfall unter der Annahme einer statistisch unabhängigen isotropen Verteilung der  $\theta_i^0$  und  $\theta_i$  auf der Einheitskugel gegeben durch

$$Q = \sqrt{\frac{\sum_{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) - S_{SN} D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i} - 1 \right) \right)^{2}}{\sum_{i} \left( D_{a}^{0} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \right)^{2}}}$$

$$= \sqrt{1 + S_{SN}^{2} - 2S_{SN}} \frac{\sum_{i} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right) \left( 3\cos^{2}\theta_{i} - 1 \right)}{\sum_{i} \left( 3\cos^{2}\theta_{i}^{0} - 1 \right)^{2}}$$

$$= \sqrt{1 + S_{SN}^{2} - 2S_{SN} \cdot S_{SN}} = \sqrt{1 - S_{SN}^{2}}$$
(5.16)

wobei (5.12) und (5.15) verwendete wurde. Sowohl die Annahme einer isotropen Verteilung der mittleren Abstandsvektoren auf der Einheitskugel als auch einer statistischen Unabhängigkeit der Fehler des Strukturmodells des Moleküls von der Verteilung der mittleren Abstandsvektoren sind durchaus plausibel und liegen den numerischen Simulationen genauso zu Grunde (Zweckstetter und Bax 2002) wie den obigen analytischen Betrachtungen. Außerdem zeigen die aus Platzgründen nicht dargestellten Ergebnisse eigener stichprobenartiger numerischer Simulationen im Einklang mit den Erfahrungen von Zweckstetter und Bax (2002), dass die obigen analytischen Ausdrücke auch dann noch eine brauchbare Näherung darstellen, wenn der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  nicht axialsymmetrisch ist und seine Rhombizität R sowie die Orientierung seines Hauptachsensystems beim Least-Squares-Fit mit angepasst werden, solange der statistische Grenzfall gegeben ist.

Die numerischen Simulationen (Zweckstetter und Bax 2002 sowie eigene unveröffentlichte Ergebnisse) und die oben dargestellten analytischen Betrachtungen mahnen zur Vorsicht bei der Verwendung von Least-Squares-Fits zur Bestimmung insbesondere der Anisotropie  $D_a$ des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$ , wohingegen die Bestimmung seiner Rhombizität R sowie der Orientierung seines Hauptachsensystems etwas robuster zu sein scheint. Da die Kombination aus dem wahren Vorzugsorientierungstensor  $\overline{\overline{D}}$  und der wahren Struktur des Moleküls natürlich nach wie vor die Streuung  $\sqrt{\frac{1}{N}\Delta^2}$  und damit den Qualitätsfaktor Q minimiert, ist die Verwendung des Least-Squares-Fits im Rahmen einer Strukturberechnung dann unproblematisch, wenn gleichzeitig sowohl der Vorzugsorientierungstensor  $\overline{D}$  als auch die Struktur selbst bestimmt werden, etwa bei Grid-Search-Verfahren (Clore et al. 1998a; Schweimer et al. 2002) oder dem impliziten Verfahren von Sass et al. (2001). Von einer festen Vorgabe einer durch einen solchen Least-Squares-Fit bestimmten Anisotropie  $D_a$  für die Strukturberechnung ist jedoch abzuraten, wenn der Qualitätsfaktor nicht besser (kleiner) als etwa  $Q \approx 30\%$  entsprechend einem Ordnungsparameter nach (5.16) von  $S_{SN} \approx 0.95$  ist, was jedoch nur qualitativ hochwertige NMR-Strukturen oder hochaufgelöste Kristallstrukturen erfüllen (zusammengefasst in Bax et al. 2001). Steht eine ausreichende Zahl an gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten zur Verfügung und bestehen keine begründeten Zweifel an einer näherungsweise isotropen Verteilung der mittleren Abstandsvektoren zwischen jeweils den zwei gekoppelten Kernspins auf der Einheitskugel und an der Genauigkeit der Extremwerte der gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten, dann dürfte die im Rahmen dieser Arbeit verwendete Methode, die Anisotropie  $D_a$  und die Rhombizität R des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  wie in Abschnitt 3.1.5.4.2 beschrieben aus diesen Extremwerten abzuschätzen und wie in Abschnitt 3.2.3.3 beschrieben bei der Strukturberechnung fest vorzugeben (Clore et al. 1998b), am robustesten sein. Besonders heikel ist die zuverlässige Bestimmung der Anisotropie  $D_a$  des Vorzugsorientierungstensors  $\overline{\bar{D}}$ , wenn aus den gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten die Ordnungsparameter S (Abschnitt 3.1.5.4.1) oder andere Informationen über die Dynamik des Moleküls abgeleitet werden sollen (Tolman et al. 1997; Fischer et al. 1999; Tolman et al. 2001; Meiler et al. 2001). Die obigen Betrachtungen ermöglichen hier eine quantitative Abschätzung und Korrektur des Einflusses der Unsicherheit des Strukturmodells auf die abgeleiteten dynamischen Parameter, wofür die obigen analytischen Ausdrücke prinzipiell besser geeignet sind als numerische Simulationen, da sie erstens in der Praxis einfacher zu handhaben und zweitens leichter nachvollziehbar und instruktiver sind. Eine Verallgemeinerung der obigen analytischen Betrachtungen auf den allgemeinen Fall eines nicht axialsymmetrischen Vorzugsorientierungstensors  $\overline{D}$  sowohl mit fehlerbehafteten gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten als auch fehlerbehaftetem Strukturmodell könnte dabei die Genauigkeit steigern, würde aber den Rahmen dieser Arbeit bei weitem sprengen.

Da der experimentelle Fehler der 118 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$ von Gly m 4 etwa  $\delta = 0.5 Hz$  betragen dürfte, wird die Streuung um die aus dem Homologiemodell berechneten Werte von  $\sqrt{\frac{1}{N}\Delta^2} = 3,99 Hz$  und damit der Qualitätsfaktor Q = 49,5 %(Abschnitt 4.6.3) eindeutig von der Unsicherheit des Homologiemodells dominiert. Abb. 4.20 lässt jedoch vermuten, dass die 118 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{N HN}$  noch nicht den statistischen Grenzfall darstellen, sondern dass einzelne deutlich sichtbare Ausreißer noch einen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse des linearen Least-Squares-Fits haben. Dementsprechend liefert eine Abschätzung des Ordnungsparameters aus (5.15) mit

$$S_{SN} = \frac{D_a}{D_a^0} = \frac{6,55 \, Hz}{9,0 \, Hz} = 0,73 \tag{5.17}$$

einen etwas niedrigeren Wert als aus (5.16) mit

$$S_{SN} = \sqrt{1 - Q^2} = \sqrt{1 - 0.495^2} = 0.87$$
 (5.18)

obwohl bei (5.18) auch der geringfügige Beitrag des experimentellen Fehlers der dipolaren Kopplungskonstanten mit auf die Unsicherheit des Homologiemodells zurückgeführt wird. Eine Interpretation des Ordnungsparameters  $S_{SN}$  kann nur auf der Grundlage eines Modells für die Verteilung der Abstandsvektoren zwischen den jeweils gekoppelten zwei Kernspins geschehen, analytische Ausdrücke für den Ordnungsparameter sind allerdings nur für sehr einfache Modelle bekannt. Die Annahme, dass die Abstandsvektoren zwischen den jeweils gekoppelten zwei Kernspins isotrop in einem um den jeweils wahren Abstandsvektor zentrierten Kegel mit Öffnungswinkel  $2\psi$  verteilt sind, liefert beispielsweise einen Ordnungsparameter von  $S_{SN} = \frac{1}{2}\cos\psi(1 + \cos\psi)$  (Tolman et al. 1997). In diesem Modell entspricht der Wert aus (5.17) einer maximalen Winkelabweichung von etwa  $\psi = 36^{\circ}$  und der Wert aus

(5.18) einer maximalen Winkelabweichung von etwa  $\psi = 24^{\circ}$ , was eine gewisse Vorstellung von der Genauigkeit des Homologiemodells von Gly m 4 ermöglicht.

# 5.5.4 Energieminimierung des Homologiemodells mit den bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen

Die insgesamt 323 bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen wurden schließlich dazu verwendet, das Homologiemodell von Gly m 4 durch eine Energieminimierung zu verfeinern. Die bereits recht hohe Zuverlässigkeit des so verfeinerten Homologiemodells wird dadurch unterstrichen, dass es nicht nur die bereits zur Verfügung stehenden experimentellen Randbedingungen gut erfüllt (Abschnitt 4.6.3), sondern auch nach der Energieminimierung den Strukturen von Pru av 1 wt und Bet v 1, auf deren Grundlage es ursprünglich erstellt wurde (Abschnitt 3.2.5), immer noch sehr ähnlich ist (Abschnitt 4.6.4). Wie schon im Fall von Pru av 1 wt (Abschnitt 1.2.1.3) beruht also auch die Kreuzreaktivität von für Bet v 1 spezifischen IgE-Antikörpern mit Gly m 4 (Kleine-Tebbe et al. 2002) auf einer durch des Proteinrückgrats die konservierte Konformation bedingten Ähnlichkeit der Moleküloberflächen, außerdem bildet auch Gly m 4 wie die anderen mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine einen großen hydrophoben Hohlraum in seinem Innern (Abb. 4.21 und Abb. 4.24), der vermutlich für die Bindung niedermolekularer organischer Liganden im Rahmen seiner noch unbekannten physiologischen Funktion bestimmt ist (Abschnitt 5.3). Den auffälligsten Unterschied zwischen dem Homologiemodell von Glym 4 einerseits und den experimentell bestimmten Strukturen von Pru av 1 wt sowie Bet v 1 andererseits stellt soweit bisher erkennbar die um einen Rest kürzere (Abb. 1.1) Schleife zwischen der Helix  $\alpha_2$ und dem Faltblattstrang  $\beta_2$  dar (Abb. 4.24). Ein detaillierterer Vergleich erfordert allerdings die Fertigstellung der dreidimensionalen Struktur von Gly m 4 in atomarer Auflösung, wofür mit der fast vollständigen sequenzspezifischen Zuordnung der Resonanzen (Abschnitt 4.6.1; Neudecker et al. 2003a, BMRB-Kennung 5605), der Sammlung der ersten experimentellen Randbedingungen (Abschnitt 4.6.2) und der Messung eines umfangreichen Satzes an mehrdimensionalen, meist heteronuklear-editierten NOESY-Spektren (Tab. 3.1) im Rahmen dieser Arbeit alle wesentlichen erforderlichen Grundlagen geschaffen werden konnten, ebenso NMR-Titrationsexperimente zur Untersuchung wie für der Bindung potentieller physiologischer Liganden an Gly m 4.

## 5.6 Strukturbestimmung von holo Bet v 4

### 5.6.1 Sequenzspezifische Zuordnung der Resonanzen

Die an die an der doppelt markierten Probe I von holo Bet v 4 (Abschnitt 3.1.1) gemessenen NMR-Spektren (Tab. 3.1) geknüpften Erwartungen (Abschnitt 2.5) wurden sowohl in Hinblick auf die Verifizierung und Vervollständigung der sequenzspezifischen Zuordnung als auch in Hinblick auf die Qualität der resultierenden Strukturen sogar eher noch übertroffen. Obwohl die spektrale Dispersion von holo Bet v 4 wegen seines niedrigen β-Faltblattanteils (Abb. 4.34) nicht ganz so gut ist wie die von Gly m 4 (Abb. 4.25 bis Abb. 4.27 im Vergleich zu Abb. 4.15 bis 4.17) und obwohl aus Gründen des ökonomischen Umgangs mit Hochfeld-NMR-Spektrometerzeit nur ein auf die Zuordnung der aliphatischen Seitenkettenresonanzen optimierter minimaler Satz an Tripelresonanzexperimenten aufgenommen wurde (Tab. 3.1), konnten mit insgesamt 934 chemischen Verschiebungen (Abschnitt 4.7.1, BMRB-Kennung 5707) die Resonanzen aller <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- und <sup>15</sup>N-Kerne von holo Bet v 4 eindeutig sequenzspezifisch zugeordnet werden, deren Resonanzen nicht entweder den gemessenen NMR-Spektren grundsätzlich nicht zu entnehmen waren oder von unter den gewählten Pufferbedingungen zu schnell mit dem Lösungsmittel austauschenden Protonen stammen (vgl. Abschnitt 5.5.1). Anhand des zur Identifizierung von Wasserstoffbrücken gemessenen H(N)CO-Spektrums konnten sogar die chemischen Verschiebungen der Cy-Atome von fünf Aspartat-Resten bestimmt werden (Abschnitt 4.7.1). Besonders hilfreich bei der sequenzspezifischen Zuordnung von holo Bet v 4 war neben seiner relativ geringen Größe von 84 Aminosäuren wie schon bei Gly m 4 (Abschnitt 5.5.1) die hohe Konzentration und durch die Reversed-Phase-Chromatographie die hohe Reinheit (Abb. 4.25) der Probe I (Abschnitt 3.1.1) sowie durch die Verwendung einer hohen Feldstärke (Resonanzfrequenz der <sup>1</sup>H-Kerne 750,13 *MHz* ) die hohe Auflösung insbesondere in der indirekten <sup>13</sup>C-Dimension F1 des <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-CTHSQC (Tab. 3.1; Abb. 4.26 und Abb. 4.27). Die Tripelresonanzexperimente ermöglichten vor allem endlich eine zuverlässige sequenzspezifische Zuordnung der Amidresonanzen des Proteinrückgrats der NH<sub>2</sub>-terminalen Reste bis Asp 7, die bedingt durch seine signifikant erhöhte interne Flexibilität in diesem Bereich kaum intraresiduale NOE-Kreuzresonanzen zeigen, so dass die Standardmethode (Wüthrich 1986, Kapitel 8) eine fehlerhafte sequenzspezifische Zuordnung lieferte (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.4.4), außerdem führten sie zu einer Korrektur der vertauschten Zuordnung der Amidresonanzen des Proteinrückgrats von Phe 63 und Glu 65 und erlaubten eine weitgehende Vervollständigung

der sequenzspezifischen Zuordnung der Seitenkettenresonanzen (Abschnitt 4.7.1, BMRB-Kennung 5707).

## 5.6.2 Experimentelle Strukturinformationen

Auf der Grundlage dieser sequenzspezifischen Zuordnung der Resonanzen konnten anschließend auf der Grundlage vor allem der ebenfalls an der doppelt markierten Probe I von holo Bet v 4 (Abschnitt 3.1.1) gemessenen heteronuklear-editierten NOESY-Spektren (Tab. 3.1) 1442 Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen gewonnen werden (Abschnitt 4.7.2.1), außerdem 50 Beschränkungen der Diederwinkel aus den 66 bestimmten skalaren Kopplungskonstanten  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$  (Abschnitt 4.7.2.2), 44 Abstandsbeschränkungen aus der Identifizierung von 22 Wasserstoffbrücken (Abschnitt 4.7.2.3), 61 experimentelle Randbedingungen aus den 68 gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  (Abschnitt 4.7.2.4) und 74 Paare von chemischen Verschiebungen der  ${}^{13}C\alpha$ - und  ${}^{13}C\beta$ -Kerne (Abschnitt 4.7.2.5). Bei drei dieser 22 Wasserstoffbrücken konnte trotz der für dieses sehr insensitive Experiment noch relativ niedrigen Konzentration der Probe I (Abschnitt 3.1.1) sogar der Kohärenztransfer über die skalare Kopplungskonstante  ${}^{3h}J_{NCO}$  in einem entsprechend optimierten H(N)CO-Spektrum detektiert und mit Hilfe eines geeigneten H(N)CO-Referenzspektrums quantifiziert werden, so dass der Akzeptor der Wasserstoffbrücke direkt bestimmt werden konnte (Abschnitt 4.7.2.3). Neben diesen drei skalaren Kopplungskonstanten  ${}^{3h}J_{NCO}$  über Wasserstoffbrücken konnten aus den selben Experimenten auch vier intraresiduale skalare Kopplungskonstanten  ${}^{2}J_{NCO}$  und drei intraresiduale skalare Kopplungskonstanten  ${}^{3}J_{NCV}$ von Aspartaten berechnet werden (Tab. 4.7). Die skalare Kopplungskonstante  ${}^{3}J_{NC_{Y}}$  von Asp 19 wird dabei jedoch betragsmäßig deutlich überschätzt, weil die Intensität  $I_{ref}$  der Kreuzresonanz zwischen dem Amidproton von Asp 19 und dem Carbonylkohlenstoff von Phe 18 im H(N)CO-Referenzspektrum außergewöhnlich klein ist. Dies deutet auf ein ungewöhnliches Relaxationsverhalten der Carbonylgruppe von Phe 18 hin, was gut zu den vermutlich auf Austauschprozessen beruhenden signifikant erhöhten Relaxationsraten des Amidstickstoffs von Phe 18 passt (Eisenmann 2001, Abschnitt 4.4; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung). Insgesamt konnte also die Zahl der experimentellen Randbedingungen gegenüber den 813 bei den ersten Strukturberechnungen verwendeten (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.5) mit einer Steigerung auf 1671 (Abschnitt 4.7.2) mehr als verdoppelt und gleichzeitig ihre Zuverlässigkeit deutlich verbessert werden.

## 5.6.3 Analyse der Qualität der berechneten Strukturen

Dementsprechend dramatisch ist auch die Verbesserung der Qualität der endgültigen Strukturen von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) gegenüber den ersten Strukturberechnungen (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.5). Zwar lassen sich die Abweichungen von der idealen kovalenten Geometrie wegen der mittlerweile durchgeführten Korrektur ihrer Standardparametrisierung (Abschnitt 4.4) nicht direkt vergleichen, die im Rahmen dieser Arbeit berechneten Strukturen erfüllen die ihnen zu Grunde liegenden experimentellen Randbedingungen aber noch einmal deutlich besser (Abschnitt 4.7.3.1) als das bei den ersten Strukturberechnungen der Fall war (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.4). Die atomaren Standardabweichungen konnten von  $0.68 \text{ Å} \pm 0.20 \text{ Å}$  für das Proteinrückgrat und  $1.15 \text{ Å} \pm 0.23 \text{ Å}$  für alle schweren Atome der Reste 7 bis 71 (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.5) auf  $0.22 \text{ Å} \pm 0.08 \text{ Å}$  für das Proteinrückgrat und  $0.57 \text{ } \text{ } \pm 0.09 \text{ } \text{ } \text{ } \text{ }$  für alle schweren Atome der Reste 5 bis 84 (Tab. 4.8) gesenkt werden, so dass jetzt alle Bereiche des Proteins mit Ausnahme der deutlich flexibleren (Abb. 4.37; Eisenmann 2001, Abschnitt 4.4; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung) NH2-terminalen Reste von Ala 1 bis His 4 hervorragend definiert sind (Abb. 4.33). Der Ramachandran-Plot (Abb. 4.35) ist mit 94,2 % der Aminosäuren in sterisch besonders bevorzugten Konformationen und insgesamt 100,0 % in sterisch günstigen Konformationen praktisch perfekt (Abschnitt 4.7.3.1), gegenüber 86,0 % bzw. 99,3 % bei den ersten Strukturberechnungen (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.5). Anhand der zur Kontrolle durchgeführten Strukturberechung ohne dipolare Kopplungskonstanten zeigte sich, dass die Struktur von holo Bet v 4 bereits durch die konventionellen experimentellen Randbedingungen sehr gut definiert ist (Abschnitt 4.7.3.2). Dementsprechend stellt der die Erfüllung der bei dieser Strukturberechnung nicht verwendeten 61 dipolaren Kopplungskonstanten angebende Qualitätsfaktor der Struktur mit dem niedrigsten Wert der Zielfunktion  $E_{pot}$  mit Q = 31,4 %(Abb. 4.41) in etwa das mit konventionellen experimentellen Randbedingungen erreichbare Optimum dar (zusammengefasst in Bax et al. 2001). Trotzdem brachte die Messung der dipolaren Kopplungskonstanten  $D_{NHN}$  tatsächlich wie erhofft (Abschnitt 2.5) neben einer allgemeinen leichten Verbesserung der Qualität der Strukturen vor allem noch einmal eine spürbare Präzisierung der genauen Orientierung der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  (Abschnitt 4.7.3.2).

Auch die vollständige Kreuzvalidierung dokumentiert diese dramatische Verbesserung der Qualität der endgültigen Strukturen von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B). Während bei den ersten Strukturberechnungen (Nerkamp et al. 2002, Abschnitt 4.5) der Großteil der experimentellen Randbedingung eine einmalige Strukturinformation beitrug und die Standardabweichung von den jeweils nicht berücksichtigten Abstandsbeschränkungen melte Satz an experimentellen Randbedingungen (Abschnitt 4.7.2) mit einer Standardabweichung von den jeweils nicht berücksichtigten Abstandsbeschränkungen von nur  $0,18 \text{ } \text{\AA} \pm 0,06 \text{ } \text{\AA}$  (Abschnitt 4.7.3.3) sogar noch deutlich vollständiger als der zur Strukturberechnung von Pru av 1 wt verwendete Satz an 2438 experimentellen Randbedingungen mit einer Standardabweichung von den jeweils nicht berücksichtigten Abstandsbeschränkungen von  $0,27 \text{ } \text{\AA} \pm 0,07 \text{ } \text{\AA}$  (Neudecker et al. 2001a). Bedauerlicherweise sind aus der Literatur kaum Vergleichswerte bekannt, die eine Interpretation dieser Standardabweichungen erleichtern würden. Bei der auf homonuklearen NMR-Experimenten basierenden Bestimmung der Struktur der aus 56 Aminosäuren aufgebauten IgG-Bindungsdomäne des G-Proteins von Streptokokken der Gruppe G in Lösung, die eine der besten experimentell bestimmten Proteinstrukturen in Lösung darstellt (Clore et al. 1993; immerhin waren alle NOE-Kreuzresonanzen im 2D-NOESY eindeutig identifiziert worden, woraus sich 854 Abstandsbeschränkungen ergeben hatten), war zum ersten Mal eine solche vollständige Kreuzvalidierung durchgeführt worden (Brünger et al. 1993) und die Standardabweichung von den jeweils nicht berücksichtigten Abstandsbeschränkungen hatte dabei 0.15 Å betragen. Auf den Einfluss der stereospezifischen Zuordnung prochiraler Gruppen auf das Resultat der vollständigen Kreuzvalidierung der Abstandsbeschränkungen und den Wert einer häufigeren Durchführung einer solchen vollständigen Kreuzvalidierung bei Proteinstrukturbestimmungen auf der Grundlage NMRspektroskopischer Daten für eine bessere Einschätzbarkeit der Qualität dieser Strukturen anhand der so gewonnenen Erfahrungswerte hatte ich bereits in meiner Diplomarbeit gebührend hingewiesen (Neudecker 2000, Abschnitt 6.3). Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass die Qualität der im Rahmen dieser Arbeit berechneten Strukturen von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) nach allen gängigen Kriterien hervorragend ist und durchaus im Bereich hochaufgelöster Kristallstrukturen anzusiedeln sein dürfte.

### 5.6.4 Koordination der beiden Calciumionen

Da an der Koordination der beiden Calciumionen lediglich Sauerstoffatome beteiligt sind, konnten aus den durchgeführten NMR-Experimenten (Tab. 3.1) keine direkten experimentellen Randbedingungen für die Geometrie dieser Koordination gewonnen werden. Daher wurde eine kanonische Koordination der beiden Calciumionen durch jeweils sechs Sauerstoffatome des Proteins an den Ecken einer pentagonalen Bipyramide (Abschnitt 1.2.3) wie bei Calmodulin und den meisten anderen EF-Hand-Proteinen (zusammengefasst in Strynadka und James 1989; Lewit-Bentley und Réty 2000) angenommen und entsprechend modelliert (Abschnitt 4.7.3.1). Die Korrektheit dieser Annahme wird durch eine Reihe experimenteller Befunde gestützt:

- Die Aminosäuresequenz von Bet v 4 zeigt in beiden EF-Händen das kanonische Ca<sup>2+</sup>-Bindungsmotiv (Abb. 1.10), und durch Mutation der nach der Vorhersage dieses Motivs an der Ca<sup>2+</sup>-Koordination beteiligten Seitenketten Asp 19 und/oder Asp 54 zu Alanin ließ sich die Ca<sup>2+</sup>-Bindung an die jeweils mutierte EF-Hand von Bet v 4 verhindern (Engel et al. 1997). Auch bei den Polcalcinen Bra r 1 (Okada et al. 1997) und Phl p 7 (Verdino et al. 2002) führte die Mutation von nach der Vorhersage dieses Motivs an der Ca<sup>2+</sup>-Koordination beteiligten Seitenketten zum gleichen Ergebnis.
- Die durch die experimentellen Randbedingungen definierte Konformation des Proteinrückgrats von holo Bet v 4 ist in beiden EF-Händen praktisch identisch mit dem kanonischer EF-Hände in der offenen Konformation (Abb. 4.45 bis 4.47).
- Die durch die Modellierung der Ca<sup>2+</sup>-Koordination bedingte Einschränkung der Konformation der beteiligten Seitenketten ist konsistent mit den experimentellen Randbedingungen.
- Die chemischen Verschiebungen der <sup>1</sup>H-Kerne von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.1) zeigen in beiden EF-Händen das typische Muster kanonischer EF-Hände (Drakenberg et al. 1989) wie der von holo Calmodulin aus der Fruchtfliege (Drosophila melanogaster; Ikura et al. 1990b; Ikura et al. 1991a), von holo Troponin C aus dem Kaninchen (Oryctolagus cuniculus; Tsuda et al. 1988), von holo Parvalbumin aus dem Hecht (Esox lucius; Padilla et al. 1988) und wie der im Gegensatz zur ersten EF-Hand kanonischen zweiten EF-Hand von holo Calbindin D<sub>9k</sub> aus dem Schwein (Sus scrofa; Drakenberg et al. 1989) und dem Rind (Bos taurus; Kördel et al. 1989; Kördel et al. 1990). Insbesondere beobachtet man eine starke Verschiebung der Amidprotonenresonanz des hochkonservierten Gly 24 bzw. Gly 59 an Sequenzposition 6 der Verbindungsschleife (Abb. 1.10) hin zu tiefem Feld (10,53 ppm bzw. 10,13 ppm im Vergleich zu 8,33 ppm bei unstrukturierten Peptiden nach Wishart et al. 1995; Abb. 4.25 und Abb. 4.42) sowie eine Verschiebung der Alphaprotonenresonanzen der beiden jeweils folgenden Reste Lys 25 und Ile 26 bzw. Phe 60 und Ile 61 hin zu tiefem Feld (5,20 ppm im Vergleich zu 8,29 ppm und 5,03 ppm im Vergleich zu 8,00 ppm bzw. 5,00 ppm im Vergleich zu 8,30 ppm und 5,00 ppm im Vergleich zu 8,00 ppm; Abb. 4.26). Da die chemischen Verschiebungen der Hα-Atome primär von der Konformation des Proteinrückgrats abhängen (zusammengefasst in Wishart und Case 2001), dürfte die Tieffeldverschiebung der Alphaprotonenresonanzen von Lys 25, Ile 26, Phe 60 und Ile 61 vor allem auf deren  $\beta$ -faltblattartige Konformation (Abb.

4.34) zurückzuführen sein. Die chemischen Verschiebungen der HN-Atome hingegen zeigen eine ausgeprägte negative Korrelation mit der Länge einer eventuellen Wasserstoffbrücke (zusammengefasst in Wishart und Case 2001; Grzesiek et al. 2001). Tatsächlich tauschen die Amidprotonen sowohl von Gly 24 als auch von Gly 59 langsam mit dem Lösungsmittel aus (Abschnitt 4.7.2.3) und zeigen in den berechneten Strukturen von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) sehr kurze Wasserstoffbrücken zu den Oδ2-Atomen der an der Koordination der Calciumionen beteiligten Carboxylgruppen von Grzesiek et al. 2001). Ähnlich kurze Wasserstoffbrücken wurden auch an den äquivalenten Positionen der extrem hochaufgelösten Kristallstruktur von holo Calmodulin aus Paramecium tetraurelia (Wilson und Brünger 2000, PDB-Kennung 1EXR) beobachtet (Abstand zwischen dem N-Atom von Gly 25 und dem Oδ2-Atom von Asp 20 2,78 Å, zwischen dem N-Atom von Gly 61 und dem Oδ2-Atom von Asp 56 2,77 Å, zwischen dem N-Atom von Gly 98 und dem Oδ2-Atom von Asp 93 2,70 Å sowie zwischen dem N-Atom von Gly 134 und dem OS2-Atom von Asp 129 2,83 Å), was ein weiteres Indiz für die ausgezeichnete Qualität der im Rahmen dieser Arbeit bestimmten Strukturen von holo Bet v 4 darstellt. Leider konnte der Kohärenztransfer über die wegen ihrer Kürze vermutlich betragsmäßig relativ große (zusammengefasst in Grzesiek et al. 2001) skalare Kopplung dieser beiden Wasserstoffbrücken von holo Bet v 4 nicht direkt beobachtet werden (Abschnitt 4.7.2.3), da die Intensität aller Amidprotonenresonanzen mit einer chemischen Verschiebung von mehr als etwa 10 ppm bereits durch das Anregungsprofil der zur Unterdrückung der Wasserresonanz verwendeten 3-9-19-WATERGATE-Sequenz mit einem Intervall von  $\tau = 212 \,\mu s$  (Sklenar et al. 1993; Schweimer 2000, Abschnitt 5.1.1) beeinträchtigt wird. Eine durch eine Temperaturerhöhung verursachte Dehnung dieser beiden sehr kurzen Wasserstoffbrücken zieht erwartungsgemäß eine Reduzierung der Tieffeldverschiebung der Amidprotonenresonanzen von Gly 24 und Gly 59 von holo Bet v 4 nach sich (Abb. 4.25 und Abb. 4.42). Diese beiden sehr kurzen Wasserstoffbrücken werden nur in Gegenwart von Ca2+-Ionen gebildet, da die NMR-Spektren von apo Bet v 4 keine solchen zu tiefem Feld verschobenen Amidprotonenresonanzen zeigen (Abb. 4.42 und Abb. 4.43).

- Die chemischen Verschiebungen der <sup>15</sup>N-Kerne von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.1) zeigen in beiden EF-Händen das typische Muster der kanonischen EF-Hände von holo Calmodulin aus der Fruchtfliege (Drosophila melanogaster; Ikura et al. 1990b; Ikura et al. 1991a). Neben der unmittelbar mit der starken Tieffeldverschiebung ihrer Amidprotonenresonanz (siehe oben) zusammenhängenden Tieffeldverschiebung der Amidstickstoffresonanz von Gly 24 bzw. Gly 59 (112,74 ppm bzw. 112,24 ppm im Vergleich zu 108,8 ppm bei unstrukturierten Peptiden nach Wishart et al. 1995; Abb. 4.25) sind auch die Amidstickstoffresonanzen von Ile 26 bzw. Ile 61 an Sequenzposition 8 (125,71 ppm bzw. 125,04 ppm im Vergleich zu 119,9 ppm bei unstrukturierten Peptiden nach Wishart et al. 1995; Abb. 4.25) und Ser 27 bzw. Ser 62 an Sequenzposition 9 der Verbindungsschleife (125,28 ppm bzw. 125,44 ppm im Vergleich zu 115,7 ppm bei unstrukturierten Peptiden nach Wishart et al. 1995; Abb. 4.25) zusammen mit ihren Amidprotonenresonanzen zu tiefem Feld verschoben. Zusätzlich zu ihrer β-faltblattartigen Konformation und ihrer Beteiligung an Wasserstoffbrücken mit dem CO-Atom von Ile 61 bzw. Ile 26 und dem OE1-Atom der an der Ca<sup>2+</sup>-Koordination beteiligten Carboxylgruppe von Glu 30 bzw. Glu 65 wird in der Literatur der Einfluss der Beteiligung der Carbonylgruppe von Lys 25 bzw. Phe 60 an der Ca<sup>2+</sup>-Koordination auf die Elektronendichte der durch eine Peptidbindung kovalent gebundenen Amidgruppe von Ile 26 und Ile 61 an Sequenzposition 8 der Verbindungsschleife als weitere Ursache für diese Tieffeldverschiebung vermutet (Biekofsky et al. 1998). Auch diese Tieffeldverschiebungen sind nur bei holo Bet v 4 zu erkennen, nicht jedoch bei apo Bet v 4 (Abb. 4.43).
- Die Hydroxylgruppe von Ser 27 und vermutlich auch von Ser 62 von holo Bet v 4 dient als Akzeptor einer Wasserstoffbrücke mit dem Amidproton von Glu 30 bzw. Glu 65 und damit wie die äquivalenten Reste bei vielen anderen EF-Hand-Proteinen (zusammengefasst in Strynadka und James 1989) als klassische N-Cap (Fersht 1998, Abschnitt 17.D.1.a) der Helix α<sub>2</sub> bzw. α<sub>4</sub> (Abb. 4.34). Zusätzlich dürften die lösungsmittelexponierten Hydroxylgruppen von Ser 27 und Ser 62 jedoch auch als Donor von Wasserstoffbrücken fungieren, da ihre Hydroxylprotonen wie schon die des äquivalenten Serins (Abb. 1.10) aus der im Gegensatz zur ersten EF-Hand kanonischen zweiten EF-Hand von Calbindin D<sub>9k</sub> aus dem Schwein (*Sus scrofa*; Drakenberg et al. 1989) und dem Rind (*Bos taurus*; Kördel et al. 1989; Kördel et al. 1990) ungewöhnlich langsam mit dem Lösungsmittel austauschen. Da jedoch in der Struktur von holo Bet v 4 in keinem der beiden Fälle ein geeigneter Akzeptor zu finden ist, liegt die Vermutung nahe, dass die Hydroxylprotonen von Ser 27 und Ser 62 jeweils zur Stabilisierung eines Netzes von Wassermolekülen beitragen, von denen jeweils

ein Wassermolekül wie bei kanonischen EF-Händen üblich (zusammengefasst in Strynadka und James 1989; Lewit-Bentley und Réty 2000) die unmittelbar benachbarte und vom Protein nicht ausgefüllte Ligandenposition -x einnimmt (Abb. 1.8 und Abb. 4.34). Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass angesichts dieser vielen Gemeinsamkeiten mit kanonischen EF-Händen kaum Zweifel daran bestehen, dass auch die Ca<sup>2+</sup>-Koordination von holo Bet v 4 dem in Abschnitt 1.2.3 beschriebenen kanonischen Muster folgt. Bei Calbindin D<sub>9k</sub> konnten die Carbonyl- und Carboxylkohlenstoffatome in der unmittelbaren räumlichen Nachbarschaft des gebundenen Metallions in der zweiten EF-Hand übrigens in einer vor kurzem durchgeführten Studie durch Ausnutzung ihrer kurzen Relaxationzeiten nach Austausch der Ca<sup>2+</sup>-Ionen in der zweiten EF-Hand durch paramagnetische Ce<sup>2+</sup>-Ionen in Inversion-Recovery-Experimenten auf dem <sup>13</sup>C-Kanal direkt bestimmt werden (zusammengefasst in Bertini et al. 2001), angesichts der Selektivität vieler EF-Hände für bestimmte zweiwertige Metallionen (insbesondere was Ca<sup>2+</sup>- und Mg<sup>2+</sup>-Ionen anbetrifft, siehe Abschnitt 1.2.3 und 1.2.4) ist bei der Durchführung und Interpretation solcher Experimente allerdings immer eine gewisse Vorsicht geboten.

## 5.6.5 Konformation der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife

Die die beiden EF-Hände, d. h. die beiden Helices  $\alpha_2$  und  $\alpha_3$  verbindende Schleife ist bei den Polcalcinen vier Reste lang und ihre Aminosäuresequenz erstaunlich stark konserviert (Abb. 1.9). Bei den meisten anderen EF-Hand-Proteinen ist sie jedoch um mindestens eine Aminosäure länger (1.10), und dementsprechend groß sind auch die konformationellen Unterschiede in diesem Bereich (Abb. 4.46 und Abb. 4.47). Die Konformation dieser Schleife könnte daher für die IgE-Kreuzreaktivität der Polcalcine (Abschnitt 1.2.4) von Bedeutung sein, vor allem aber stellt sie den einzigen signifikanten konformationellen Unterschied zwischen der monomeren Struktur von holo Bet v 4 in Lösung (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) und der dimeren Kristallstruktur von Phl p 7 (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U) dar (Abb. 4.45). Bei holo Calbindin  $D_{9k}$  aus dem Schwein (*Sus scrofa*; Drakenberg et al. 1989) und dem Rind (Bos taurus; Chazin et al. 1989; Kördel et al. 1989; Kördel et al. 1990; Svensson et al. 1992, PDB-Kennung 4ICB) wurde eine cis-/trans-Isomerie eines Prolins in dieser Schleife beobachtet, die zu zwei verschiedenen Konformationen dieser Schleife mit einer gegenseitigen Austauschrate von etwa  $0.2\frac{1}{s}$  (Kördel et al. 1990) führt und deren biologische Signifikanz noch unklar ist. Mutation genau dieses Prolins, das nach dem Sequenzalignment zu Pro 43 von Bet v 4 äquivalent ist (Abb. 1.10), zu einem Methionin verschob das Monomer-Dimer-Gleichgewicht von holo Calbindin D<sub>9k</sub> bei Raumtemperatur hin zu dem bereits in Abschnitt

1.2.4 erwähnten durch Domain Swapping erzeugten Dimer (Håkansson et al. 2001, PDB-Kennung 1HT9). Aus diesen Gründen wurde der Klärung der Konformation dieser Schleife und dabei insbesondere der cis-/trans-Isomerie von Pro 43 bei der Strukturbestimmung von holo Bet v 4 eine hohe Priorität eingeräumt.

Bei der doppelt markierten Probe I von holo Bet v 4 (Abschnitt 3.1.1) befanden sich die NH<sub>2</sub>seitigen Peptidbindungen sowohl von Pro 5 als auch von Pro 43 eindeutig in trans-Konfiguration (Abschnitt 4.7.2.1). Zwar kann nicht endgültig ausgeschlossen werden, dass unterschiedliche Gleichgewichte zwischen der cis- und trans-Konfiguration der Peptidbindung zwischen Thr 42 und Pro 43 die Ursache für die schlechte Reproduzierbarkeit der Amidresonanz von Thr 42 bei verschiedenen Proben mit eventuell geringfügig verschiedenen Pufferbedingungen und/oder für das Auftreten einer zweiten, sehr viel schwächeren Amidresonanz von Thr 42 bei der einfach markierten Probe F (Abschnitt 3.1.1) darstellen. Die verfügbaren experimentellen Daten erbrachten jedoch keinerlei Hinweis auf das Vorliegen einer cis-Konfiguration in einer der Proben und lassen daher eine andere Ursache vermuten. In den berechneten Strukturen von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3) dient die Hydroxylgruppe von Thr 42 durch eine Wasserstoffbrücke mit dem Amidproton von Glu 45 zusätzlich zur sekundärstrukturtypischen Wasserstoffbrücke zwischen der Carbonylgruppe von Thr 42 mit dem Amidproton von Val 46 als klassische N-Cap (Fersht 1998, Abschnitt 17.D.1.a) der Helix a, während sich das lösungsmittelexponierte Amidproton von Thr 42 in unmittelbarer räumlicher Nähe zur ebenfalls lösungmittelexponierten Carboxylgruppe von Glu 45 befindet. Da die chemischen Verschiebungen von Amidgruppen in Proteinen bekanntlich wesentlich durch die Bildung von Wasserstoffbrücken und deren Stärke bzw. Länge bestimmt werden (zusammengefasst in Wishart und Case 2001; Grzesiek et al. 2001), ist die Streuung der Amidresonanz von Thr 42 möglicherweise Ausdruck einer Wasserstoffbrücke mit der Carboxylgruppe von Glu 45, eventuell auch unter Beteiligung von Wassermolekülen, deren Stärke bzw. Länge so stark von den Pufferbedingungen wie Temperatur, pH-Wert und/oder Ionenstärke abzuhängen scheint, dass selbst geringfügige Veränderungen wie der Verzicht auf 20 mM Natriumacetat bei im Rahmen der Messfehler identischem pH-Wert im Falle der Probe F (Nerkamp 2002, Abschnitt 3.6.3) oder der Anwesenheit von 2 mM EDTA im Falle der aus apo Bet v 4 durch Zugabe von 25 mM CaCl<sub>2</sub> erhaltenen Probe (Abschnitt 3.1.5.7; Abb. 4.25) einen Effekt zeigen. Diese Erklärung steht zudem im Einklang mit der Beobachtung, dass die <sup>1</sup>H-Seitenkettenresonanzen von Thr 42 fast gar nicht streuen (Abschnitt 4.7.2.1).

Interessanterweise wurde bei der vor kurzem durchgeführten Bestimmung der extrem hochaufgelösten Kristallstruktur von holo Calmodulin aus *Paramecium tetraurelia* festgestellt, dass dort diese Wasserstoffbrücke zwischen dem Amidproton des zu Thr 42 von Bet v 4 äquivalenten Thr 44, das ebenfalls als N-Cap der Helix  $\alpha_3$  dient, und der Carboxylgruppe des zu Glu 45 von Bet v 4 äquivalenten Glu 47 tatsächlich exisitiert und dass genau an diese Carboxylgruppe ein zusätzliches Ca<sup>2+</sup>-Ion bindet (Wilson und Brünger 2000, PDB-Kennung 1EXR). Obwohl dieses zusätzliche Ca<sup>2+</sup>-Ion zusätzlich zur Carboxylgruppe von Glu 47 und vier Wassermolekülen auch noch von der Carboxylgruppe von Asp 58 eines im Rahmen der Kristallpackung benachbarten Calmodulin-Moleküls ligiert wird und daher zunächst als reines Kristallpackungsartefakt interpretiert wurde (Wilson und Brünger 2000), ist angesichts der obigen Befunde zumindest eine transiente Bindung eines weiteren Ca<sup>2+</sup>-Ions an die Carboxylgruppe von Glu 45 von holo Bet v 4 bei hohem Ca<sup>2+</sup>-Überschuss und in Abhängigkeit von den sonstigen Pufferbedingungen nicht auszuschließen. Außerdem wurden in dieser extrem hochaufgelösten Kristallstruktur von holo Calmodulin zwei diskrete trans-Konformationen von Pro 43 beobachtet (Wilson und Brünger 2000, PDB-Kennung 1EXR), das jedoch sowohl von der Aminosäuresequenz (Abb. 1.10) als auch von der dreidimensionalen Struktur her nicht zu Pro 43, sondern zu Ile 41 von holo Bet v 4 äquivalent ist.

Bereits bei holo Calbindin D<sub>9k</sub> aus dem Schwein (Sus scrofa; Akke et al. 1992) und aus dem Rind (Bos taurus; Kördel et al. 1993, PDB-Kennungen 2BCA und 2BCB; Kördel et al. 1997, PDB-Kennung 1B1G) wurde festgestellt, dass die die beiden EF-Hände verbindende Schleife in Lösung weit flexibler ist, als es die Kristallstrukturen vermuten ließen, wo in dieser gegenüber den Polcalcinen um drei Aminosäuren längeren Schleife trotz erhöhter Temperaturfaktoren von  $B \approx 30 \text{ Å}^2$  sogar noch eine Windung einer zusätzlichen Helix identifiziert wurde (Szebenyi et al. 1981; Szebenyi und Moffat 1986, PDB-Kennung 3ICB; Svensson et al. 1992, PDB-Kennung 4ICB). Im Gegensatz zu den meisten anderen EF-Hand-Proteinen beginnt die Helix  $\alpha_3$  von holo Calbindin D<sub>9k</sub> erst mit dem zu Glu 45 äquivalenten Threonin als klassischer N-Cap (Fersht 1998, Abschnitt 17.D.1.a), so dass das die cis-/trans-Isomerie zeigende Prolin zwar von der Aminosäuresequenz her zu Pro 43 äquivalent ist (Abb. 1.10), jedoch nicht unbedingt auch von der dreidimensionalen Struktur her. Trotzdem zeigt die die beiden EF-Hände verbindende Schleife auch bei holo Bet v 4 eine signifikant erhöhte interne Flexibilität des Proteinrückgrats (Abb. 4.37), was sich auch in einer im Vergleich zu den beiden EF-Händen selbst etwas größeren Streuung der Konformation des Proteinrückgrats dieser Schleife widerspiegelt (Abb. 4.33 und Abb. 4.37). Eine detailliertere Analyse der gemessenen Relaxationsdaten von holo Bet v 4 weist wie schon bei holo Calmodulin aus der Fruchtfliege (Drosophila melanogaster; Barbato et al. 1992) und holo Parvalbumin aus der Ratte (Rattus norvegicus; Baldellon et al. 1998) auf ausgeprägte Bewegungen dieser Schleife auf der Pikosekunden- bis

Nanosekundenzeitskala hin (Eisenmann 2001, Abschnitt 4.4; Werte mittlerweile aktualisiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung). Diese Dynamik sollte bei allen Betrachtungen der Konformation der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife von holo Bet v 4 nicht außer Acht gelassen werden.

## 5.6.6 Untersuchung der Bindung von Calcium an Bet v 4

Die im Rahmen dieser Arbeit an Bet v 4 durchgeführten Untersuchungen konzentrierten sich zunächst einmal auf eine umfassende strukturelle Charakterisierung der holo-Form. Wie bereits in Abschnitt 1.2.4 beschrieben weisen jedoch einige experimentelle Befunde darauf hin, dass die Bindung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen an Bet v 4 und die anderen Polcalcine eine reversible Konformationsänderung verursacht, die sowohl für die IgE-Reaktivität als auch für die physiologische Funktion der Polcalcine wesentlich ist. Ein detailliertes Verständnis der immunologischen Eigenschaften und der physiologischen Funktion von Bet v 4 erfordert daher letztendlich die strukturelle Charakterisierung sowohl der apo-Form als auch der holo-Form, so dass im Rahmen dieser Arbeit auch mit den NMR-spektroskopischen Untersuchungen an apo Bet v 4 begonnen wurde.

Die spektrale Dispersion von apo Bet v 4 (Abb. 4.42 und Abb. 4.43) ist deutlich schlechter als von holo Bet v 4, insbesondere zeigen die Resonanzen in den Ca<sup>2+</sup>-Bindungsscheifen der beiden EF-Hände nicht die charakteristischen Tieffeldverschiebungen (Abschnitt 5.6.4), so dass bereits das 1D-1H-Spektrum eine zuverlässige Bestimmung des Ca2+-Bindungszustands von Bet v 4 erlaubt (Abb. 4.42). Auch ist die Linienbreite der Resonanzen von apo Bet v 4 (Abb. 4.43) nicht so homogen wie bei holo Bet v 4 (Abb. 4.25). Nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> im Überschuss verbesserte sich die spektrale Dispersion schlagartig, und die NMR-Spektren (Abb. 4.25 und Abb. 4.42) sind dann wie erwartet praktisch identisch mit denen der doppelt markierten Probe I von holo Bet v 4 (Abschnitt 3.1.1). Da in CD-spektroskopischen Untersuchungen beobachtet wurde, dass die vollständige scheinbare Helizität von holo Bet v 4 und damit vermutlich die vollständige Ca<sup>2+</sup>-Bindung nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> im Überschuss auf apo Bet v 4 erst nach kurzzeitigem Erhitzen der Probe auf T = 333 K erreicht wurden (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.2.2), wurde dieses Experiment wiederholt, allerdings diesmal anhand von 1D-1H-NMR-Spektren (Abb. 4.42) und 1H,15N-HSQC-Spektren (Abb. 4.25) verfolgt. Die NMR-Spektren nach dem erneuten Abkühlen unterschieden sich jedoch nur durch geringfügig breitere Resonanzen von denen vor dem Erhitzen, wohingegen keine deutlichen Intensitätsunterschiede der für die holo-Form charakteristischen stark zu tiefem Feld verschobenen Resonanzen und damit kein Hinweis auf eine solche Beschleunigung einer möglicherweise noch unvollständigen Ca<sup>2+</sup>-Bindung erkennbar waren (Abschnitt 4.7.4).

Das im Rahmen der Dissertation von J. Nerkamp gemessene <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum von apo Bet v 4 (Nerkamp 2002, Abb. 4.4-7) zeigt erstaunlicherweise kaum Ähnlichkeit mit dem im Rahmen dieser Arbeit gemessenen (Abb. 4.43) und ist typisch für ein im Wesentlichen unstrukturiertes Protein. Da das im Rahmen dieser Arbeit gemessene <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum von apo Bet v 4 immer noch eine erheblich bessere spektrale Dispersion aufweist und zudem an einer Probe gemessen wurde, die nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> im Überschuss die wohl bekannten NMR-Spektren von holo Bet v 4 zeigte (Abb. 4.25 und Abb. 4.42), dürfte es sich dabei um das authentischere der beiden <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektren von apo Bet v 4 handeln. Meiner Erfahrung nach löst sich lyophilisiertes apo Bet v 4 in Abwesenheit von Calcium nicht besonders gut, so dass nicht auszuschließen ist, dass das im Rahmen der Dissertation von J. Nerkamp gemessene <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N-HSQC-Spektrum von apo Bet v 4 (Nerkamp 2002, Abb. 4.4-7) vor allem ungefaltete Mikroaggregate zeigt, die beim Lösen der Probe entstanden sind.

Eine ähnliche Verschlechterung der Dispersion und Zunahme der Inhomogenität der Linienbreite der Resonanzen bei Ca<sup>2+</sup>-Entzug war bereits bei Calmodulin beobachtet worden, so dass man lange vermutet hatte, apo Calmodulin könnte in Form eines so genannten Molten Globules vorliegen. Relaxationsmessungen zeigten dann jedoch, dass die Flexibilität des Proteinrückgrats lediglich in den Verbindungsschleifen jeder der vier EF-Hände stark zunimmt, wohingegen die  $\alpha$ -Helices und die vier kurzen  $\beta$ -Faltblattstränge auch in der apo-Form relativ starr sind (Tjandra et al. 1995). Die Strukturbestimmung erbrachte dann den endgültigen Nachweis, dass die Sekundärstrukturelemente von apo Calmodulin mit denen von holo Calmodulin identisch sind und dass bei Ca<sup>2+</sup>-Bindung lediglich die relative Orientierung der  $\alpha$ -Helices zueinander von der geschlossenen in die offene Konformation übergeht (Abschnitt 1.2.3). Die im Rahmen dieser Arbeit gemessenen NMR-Spektren (Abb. 4.42 und Abb. 4.43) lassen vermuten, dass auch bei Bet v 4 ein Ca<sup>2+</sup>-Entzug eine solche Konformationsänderung unter Erhaltung der Sekundärstrukturelemente verursacht. Gestützt wird diese Vermutung durch das dem von Calmodulin sehr ähnliche Verhalten der Polcalcine in CD-spektroskopischen Untersuchungen (Abschnitt 1.2.4). Angesichts ihres ausgeprägt amphipatischen Charakters ist davon auszugehen, dass bei apo Betv4 auch die hochkonservierte COOHterminale Helix α<sub>5</sub>, durch die sich die Polcalcine von den anderen EF-Hand-Proteinen abheben (Abb. 1.9, Abb. 1.10 und Abb. 4.45 bis 4.47), erhalten bleibt, ihre strukturelle wie funktionelle Rolle bei apo Bet v 4 ist jedoch vollkommen unklar. Zur Verifizierung dieser Hypothese, dass die beiden EF-Hände von apo Bet v 4 in der geschlossenen Konformation vorliegen, und zur Klärung der Rolle der Rolle der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  ist die Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von apo Bet v 4 notwendig, die wegen der schlechten spektralen Dispersion den Einsatz mehrdimensionaler heteronuklearer NMR-Techniken <sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N-markierten Proben notwendig erscheinen lässt. Interessant wäre außerdem eine Charakterisierung der Affinität und Kinetik der Ca<sup>2+</sup>-Bindung an Bet v 4.

## 5.6.7 Oligomerisierungszustand

Da die dimere Kristallstruktur von holo Phl p 7 wie in Abschnitt 1.2.4 beschrieben durch Domain Swapping vor sich geht, stellt die Konformation der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife (Abschnitt 5.6.5) den einzigen signifikanten Unterschied zwischen der monomeren und dimeren Struktur der Polcalcine dar (Abb. 4.45). Aus diesem Grund ist eine zuverlässige Unterscheidung der monomeren von der dimeren Form anhand der experimentellen Randbedingungen praktisch unmöglich, weil fast alle bei der dimeren Form nicht mehr intramolekular vorhandenen tertiären Kontakte im Rahmen des Domain Swapping einfach durch den äquivalenten intermolekularen tertiären Kontakt ersetzt werden und sich intramolekulare normalerweise nicht von intermolekularen NOE-Kreuzresonanzen unterscheiden lassen. Grundsätzlich besteht zwar die Möglichkeit, durch Aufnahme heteronuklear editierter und/oder gefilterter mehrdimensionaler NOESY-Spektren an einer stöchiometrischen Mischung zweier unterschiedlich isotopenmarkierter Proben von holo Bet v 4 eventuelle intermolekulare NOE-Kreuzresonanzen zu selektieren (zusammengefasst in Walters et al. 2001). Da jedoch die zu Beginn der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen an holo Bet v 4 bekannten experimentellen Daten eher auf ein Vorliegen als Monomer hindeuteten und die Herstellung einer solchen gemischten Probe angesichts der hohen Kosten der Isotopenmarkierung in diesem Fall eine sinnlose Verschwendung von Steuergeldern bedeutet hätte, wurde der Oligomerisierungszustands von holo Bet v 4 durch Charakterisierung seiner hydrodynamischen Eigenschaften bestimmt, wozu parallel zu den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten NMR-spektroskopischen Untersuchungen (Abschnitte 4.7.3.1 und 4.7.5) auch analytische Ultrazentrifugationen verwendet wurden (T. Lauber, persönliche Mitteilung). Ein Vergleich der Ergebnisse ist in Tab. 5.1 zusammengestellt:

		NMR <sup>a</sup>	Ultrazentrifugation <sup>b</sup>	Vorhersage <sup>c</sup>
apo Bet v 4	Hydrodynamischer Radius	$\geq$ 18,9 Å ± 0,4 Å	18,2 Å $\pm$ 0,1 Å	
holo Bet v 4	Hydrodynamischer Radius	17,8 Å $\pm$ 0,4 Å	17,9 Å ± 0,2Å (≈ 85 %)	18.3 Å
			22,2 Å $\pm$ 0,2Å ( $\approx$ 15 %)	
	Autokorrelationszeiten der Rotationsdiffusion	6,1 ns		6,5 ns
		5,9 ns		6,2 ns
		5,4 ns		5,4 ns

### Tab. 5.1 Hydrodynamische Eigenschaften von apo und holo Bet v 4.

- a Hydrodynamische Radien aus der Translationsdiffusion (Abschnitt 4.7.5) und Autokorrelationszeiten der Rotationsdiffusion aus dem gemessenen Relaxationsdaten (Eisenmann 2000; Werte mittlerweile korrigiert, A. Eisenmann, persönliche Mitteilung) in der Näherung eines prolat axialsymmetrischen Rotationsdiffusionstensors.
- b Hydrodynamische Radien aus Sedimentationsgeschwindigkeitsexperimenten unter der Annahme eines Hydratationsgrades von 30 % (w/w) (Perkins 2001). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über die Messungen bei drei verschiedenen Proteinkonzentrationen von  $0,15 \, mM$  bis  $0,60 \, mM$  bei apo Bet v 4 bzw. vier verschiedenen Proteinkonzentrationen von  $0,12 \, mM$  bis  $0,60 \, mM$  bei holo Bet v 4 in der Form Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung. Daraus ergeben sich Schätzwerte für die relative Molekülmasse von  $10,18 \, kDa \pm 0,08 \, kDa$  für apo Bet v 4 bzw.  $10,52 \, kDa \pm 0,22 \, kDa$  ( $\approx 85 \, \%$ ) und  $20,3 \, kDa \pm 1,0 \, kDa$  ( $\approx 15 \, \%$ ) für holo Bet v 4 (T. Lauber, persönliche Mitteilung).
- c Theoretische Vorhersage auf der Grundlage eines prolat axialsymmetrischen Rotationsellipsoids mit Halbachsen von 13,6 Å und 19,5 Å, das den gleichen Trägheitstensor besitzt wie die Struktur von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) in der prolat axialsymmetrischen Näherung, mit einer zusätzlichen Hydrathülle von 2,8 Å (Abschnitt 4.7.3.1).

Die aus der Translationsdiffusion und der analytischen Ultrazentrifugation bestimmten Werte für den hydrodynamischen Radius von holo Bet v 4 sind im Rahmen der Fehler identisch (Tab. 5.1). Sowohl dieser hydrodynamische Radius als auch die aus den Relaxationsdaten bestimmten Autokorrelationszeiten der Rotationsdiffusion, die an zwei unterschiedlich isotopenmarkierten Proben von Bet v 4 gemessen wurden, konnten auf der Grundlage der Struktur von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1) mit Hilfe eines einfachen hydrodynamischen Modells (Abschnitt 4.7.3.1) auf etwa 5 % genau vorhergesagt werden (Tab. 5.1). Der Wert von 15,3  $Å \pm 0,3$  Å für den hydrodynamischen Radius von holo Bet v 4, der aus einer im Rahmen der Dissertation von J. Nerkamp durchgeführten Messung der Translationsdiffusion bestimmt wurde (Nerkamp 2002, Abschnitt 4.3.3), ist hingegen unrealistisch klein. Da diese Translationsdiffusionsmessungen einschließlich ihrer Auswertung relativ robust sind, stellt ein teilweiser Abbau der damals verwendeten Probe die plausibelste Erklärung für diesen kleinen Wert dar, die spektrale Dispersion der gemessenen 1D-<sup>1</sup>H-Spektren in D<sub>2</sub>O reicht für die Klärung dieser Frage jedoch nicht aus.

Sowohl die Translationsdiffusionsmessungen als auch die analytischen Ultrazentrifugationen zeigen, dass der hydrodynamische Radius von apo Bet v 4 etwas größer ist als der von holo Bet v 4 (Tab. 5.1). Dies bestätigt die Ergebnisse der bereits in Abschnitt 1.2.4 erwähnten an Bet v 4 und anderen Polcalcinen durchgeführten Gelelektrophorese-, Gelfiltrations- und Grö-

Benausschlusschromatographie-Experimente. Der aus der Translationsdiffusion bestimmte Wert für den hydrodynamischen Radius ist allerdings etwas größer als der aus der analytischen Ultrazentrifugation (Tab. 5.1). Obwohl sich diese Differenz im Rahmen der Fehler hart an der Grenze zur Signifikanz befindet, ist sie keineswegs unplausibel. Da die Abhängigkeit des Perrin-Formfaktors F und damit des hydrodynamische Radius eines globulären Proteins von seiner Form so unempfindlich ist, dass selbst eine Erhöhung des Verhältnisses der beiden Hauptachsen um 30 % von P = 1,434 bei holo Bet v 4 auf P = 1,864 nach (4.1) eine Erhöhung des Perrin-Formfaktors um nur 2 % von F = 1,012 auf F = 1,035 bewirken würde, dürfte der gegenüber holo Bet v 4 etwas größere hydrodynamische Radius von apo Bet v 4 zumindest teilweise durch die vermutete erhöhte Flexibilität insbesondere der beiden auch in der geschlossenen Konformation von EF-Hand-Domänen lösungsmittelexponierten Calciumbindungsschleifen (Abschnitt 5.6.6) bedingt sein. In diesem Fall könnte aber weder davon ausgegangen werden, dass der bei der Bestimmung der hydrodynamischen Eigenschaften aus den analytischen Ultrazentrifugationen verwendete Hydratationsgrad sowie das partielle spezifische Volumen des Proteins gleich bleiben (McRorie und Voelker 1993, Anhang B), noch dass der hydrodynamische Radius nicht durch die bei der analytischen Ultrazentrifugation auftretenden enormen Beschleunigungs- und Reibungskräfte gegenüber der Translationsdiffusion im ruhenden NMR-Probenröhrchen reduziert wird (Cantor und Schimmel 1980, Abschnitt 11-2).

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass die hervorragende Übereinstimmung der Ergebnisse dreier unabhängiger experimenteller Methoden (NMR-Translationsdiffusion, NMR-Relaxation und analytische Ultrazentrifugation) untereinander und mit den theoretischen Vorhersagen (Tab. 5.1) beweist, dass sowohl apo als auch holo Bet v 4 in allen untersuchten Proben eindeutig vorwiegend als Monomer vorliegen. Analytische Ultrazentrifugationen erlauben eine gleichzeitige hydrodynamische Charakterisierung mehrerer Komponenten einer Probe, und in den Sedimentationsgeschwindigkeitsexperimenten an holo Bet v 4 wurde neben dem dominierenden Monomeranteil auch ein geringer Dimeranteil beobachtet (Tab. 5.1). Dieser auf etwa 15 % geschätzte Dimeranteil war weitgehend unabhängig von der Proteinkonzentration und während der ebenfalls durchgeführten mehrere Stunden dauernden Sedimentations-Diffusions-Gleichgewichtsexperimente stellte sich noch kein Gleichgewicht zwischen Monomer und Dimer ein (T. Lauber, persönliche Mitteilung). Daher ist nicht auszuschließen, dass die bei der einfach markierten Probe F von holo Bet v 4 (Abschnitt 3.1.1) beobachtete sehr viel schwächere zweite Amidresonanz von Thr 42 von einem solchen Dimeranteil stammt, wohingegen die schlechte Reproduzierbarkeit der dominierenden Amidresonanz von Thr 42 eher auf einen gegenüber der NMR-Zeitskala schnell austauschenden von den Pufferbedingungen abhängenden Gleichgewichtsprozess wie die in Abschnitt 5.6.5 diskutierte transiente Bindung eines weiteren Ca<sup>2+</sup>-Ions hindeutet. Da die Resonanzen der <sup>1</sup>H-Kerne eines sowieso schon niedrigen Dimeranteils durch die wegen der doppelten Größe etwa doppelt so schnelle transversale Relaxation (Neudecker 2000, Abschnitt 3.1.5) gegenüber denen des Monomeranteils noch zusätzlich geschwächt werden, ist angesichts des typischen Signal-Rausch-Verhältnisses mehrdimensionaler NOESY-Spektren eine Beeinträchtigung der Strukturbestimmung des Monomeranteils praktisch auszuschließen, wie auch die Tatsache zeigt, dass für die bei der einfach markierten Probe F von holo Bet v 4 (Abschnitt 3.1.1) beobachtete sehr viel schwächere zweite Amidresonanz von Thr 42 kaum interresiduale NOE-Kreuzresonanzen detektiert werden konnten.

Andererseits impliziert dies aber natürlich, dass die gemessenen NMR-Spektren keine zuverlässige Charakterisierung des geringfügigen Dimeranteils erlauben. Angesichts der langsamen Gleichgewichtseinstellung zwischen Monomer und Dimer erscheint ein Domain Swapping wie bei holo Phl p 7 als Ursache der geringfügigen Dimerisierung von holo Bet v 4 nicht unwahrscheinlich, da auch das durch Mutation künstlich erzeugte Domain Swapping von holo Calbindin D<sub>9k</sub> eine so hohe kinetische Barriere aufwies, dass die Gleichgewichtseinstellung zwischen Monomer und Dimer bei Raumtemperatur Wochen bis Monate dauerte (Håkansson et al. 2001, PDB-Kennung 1HT9). Diese hohe kinetische Barriere erklärt sich dadurch, dass zunächst die wie sich anhand ihrer Thermostabilität (Abschnitt 1.2.4) zeigt extrem stabile Ca<sup>2+</sup>-gebundene EF-Hand-Paarung bei zwei Molekülen gleichzeitig aufgebrochen werden muss, und dementsprechend konnte bei der Mutante von Calbindin  $D_{9k}$  die Gleichgewichtseinstellung durch alle Maßnahmen beschleunigt werden, die die Affinität der Ca<sup>2+</sup>-Bindung reduzieren (Håkansson et al. 2001). Im Gegensatz zum fast ausschließlich monomeren Wildtyp lag das Gleichgewicht der Mutante bei Raumtemperatur bei einer Dissoziationskonstante von etwa  $8 \, mM$ , das Dimer kristallisierte jedoch leichter als das Monomer und konnte daher durch Kristallisation weiter angereichert werden. Die Ursache für diese Verschiebung des Gleichgewichts durch die Mutation des eine cis-/trans-Isomerie zeigenden Prolins in der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife (Abschnitt 5.6.5) zu einem Methionin liegt in der im Vergleich zum Monomer energetisch günstigeren hydrophoben Packung dieses Methionins im Dimer, wohingegen nach einer Mutation zu einem Glycin dementsprechend wie beim Wildtyp fast auschließlich das Monomer beobachtet wurde (Håkansson et al. 2001, PDB-Kennung 1HT9). Bei höheren Temperaturen hingegen lag das Gleichgewicht auch bei der Mutante mit dem Methionin anstelle des Prolins wieder

fast vollständig auf Seiten des Monomers (Håkansson et al. 2001), vermutlich weil der mit der Temperatur gewichtete entropische Beitrag zur freien Enthalpie das Monomer favorisiert.

Angesichts der hohen kinetischen Barriere zwischen kanonischem Monomer und durch Domain Swapping erzeugtem Dimer lässt sich nicht vollständig ausschließen, dass die experimentell beobachteten Unterschiede zwischen dem Oligomerisierungszustand von holo Bet v 4 und holo Phl p 7 lediglich durch Details der Herstellung der Proben bedingte und dann kinetisch stabilisierte Effekte darstellen. Dagegen spricht jedoch, dass sowohl apo Bet v 4 als auch holo Bet v 4 in allen untersuchten Proben ausschließlich oder zumindest vorwiegend als Monomer vorlagen (Tab. 5.1) und auch in Crosslinking-Experimenten kein Dimer nachweisbar war (Engel et al. 1997), während sowohl apo Phl p 7 als auch holo Phl p 7 unter allen untersuchten Bedingungen ausschließlich als Dimer vorlagen (Verdino et al. 2002). An diesem Punkt stellt sich die Frage, warum Phl p 7 als bisher einziges bekanntes natürlich vorkommendes EF-Hand-Protein ausschließlich ein durch Domain Swapping verursachtes Dimer bildet. Zwar besitzt Phl p 7 im Gegensatz zu Bet v 4 ein Cystein, das jedoch in der Kristallstruktur von holo Phl p 7 (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U) keine Disulfidbrücken bildet und deswegen als Erklärung ausscheidet. Die als Erklärung vorgeschlagene (Verdino et al. 2002) Verkürzung der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife der Polcalcine um mindestens eine Aminosäure gegenüber den meisten anderen EF-Hand-Proteinen (Abb. 1.10) erklärt den Unterschied zwischen Bet v 4 und Phl p 7 ebenso wenig wie der Hinweis auf das durch vier unter den Polcalcinen hochkonservierte Reste gebildete Netzwerk an Wasserstoffbrücken, das die Konformation dieser Schleife stabilisiert, oder die Vermutung, die günstigen hydrophoben Kontakte der unter den Polcalcinen hochkonservierten amphipatischen COOH-terminalen Helix as (Abb. 1.9) könnten das Dimer stabilisieren, zumal die deutliche Deformation dieser Helix in der Kristallstruktur von holo Phl p 7 (Abb. 4.45) eher auf sterische Konflikte hinweist (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U). Etwas plausibler erscheint der auf einem Analogieschluss zum Domain Swapping von Calbindin D<sub>9k</sub> (Håkansson et al. 2001, PDB-Kennung 1HT9) beruhende Vorschlag, das zu Pro 43 von Bet v 4 äquivalente Alanin in der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife (Abb. 1.9) könnte für das Domain Swapping von Phl p 7 verantwortlich sein (Nerkamp 2002, Abschnitt 5.3.3), obwohl Pro 43 von Bet v 4 wie bereits in Abschnitt 5.6.5 festgestellt lediglich von der Aminosäuresequenz her zu dem mutierten Prolin von Calbindin D<sub>9k</sub> äquivalent ist, nicht jedoch von der dreidimensionalen Struktur her.
#### 5.6.8 Epitopanalyse

Wie schon bei Pru av 1 (Abschnitt 5.4.1) stellt sich natürlich auch nach der Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von holo Bet v 4 die Frage nach der Lage der kreuzreaktiven IgE-Epitope auf der Moleküloberfläche. Die in Abschnitt 1.2.3 beschriebene Beobachtung der Kreuzreaktivität von für Polcalcine spezifischen IgE-Antikörpern mit den nur sehr entfernt verwandten EF-Hand-Allergenen Bet v 3, Jun o 4 und Ole e 8, deren Sequenzidentität mit den Polcalcinen sich weitgehend auf die Ca<sup>2+</sup>-Bindungsstellen selbst beschränkt, lässt vermuten, dass die bei fast allen EF-Hand-Proteinen hochkonservierten Ca<sup>2+</sup>-Bindungsstellen (Abb. 1.10) kreuzreaktive IgE-Epitope darstellen. Eine Verifizierung dieser Hypothese ist jedoch nicht nur wegen ihrer Bedeutung für die Erklärung der beobachteten IgE-Kreuzreaktivitätsmuster besonders interessant, sondern auch unter dem Gesichtspunkt der Notwendigkeit der Sicherstellung der Immuntoleranz gegenüber den vielen körpereigenen EF-Hand-Proteinen wie Calmodulin und Troponin C zur Vermeidung von Autoimmunerkrankungen.

In der Tat haben sich die publizierten Untersuchungen zur IgE-Reaktivität der Polcalcine bisher weitgehend auf die Ca<sup>2+</sup>-Bindung konzentriert. Wegen der reduzierten IgE-Reaktivität der apo-Formen der Polcalcine bei den meisten Patienten (Abschnitt 1.2.4) wurde bereits mehrfach vorgeschlagen, Mutanten mit durch Punktmutation der an der Ca<sup>2+</sup>-Ligation beteiligten Seitenketten zerstörter Ca<sup>2+</sup>-Bindungsfähigkeit als Impfstoffe für die spezifische Immuntherapie zu verwenden, um die anaphylaktischen Nebenwirkungen zu reduzieren (Okada et al. 1998; Hayek et al. 1998; Valenta et al. 1998; Niederberger et al. 1999; Verdino et al. 2002). Eine alternative Strategie zur Herstellung solcher hypoallergener Impfstoffe besteht in der isolierten Herstellung jeweils nur einer der beiden EF-Hände (Hayek et al. 1998; Ledesma et al. 2002; Verdino et al. 2002). Aus rein strukturbiologischer Sicht ist die Herangehensweise dieser Untersuchungen jedoch äußerst unbefriedigend. Die Beobachtung einer signifikant modulierten IgE-Aktivität einer bestimmten Mutante des zu untersuchenden Allergens erlaubt wie in Abschnitt 5.6.4 ausführlich beschrieben nur dann eine Aussage über die Lage der IgE-Epitope auf der Moleküloberfläche, wenn die Auswirkungen dieser Mutation definiert und vor allem lokal begrenzt sind. Der Ca<sup>2+</sup>-Entzug dürfte allerdings eine Konformationsänderung der gesamten Tertiärstruktur der Polcalcine zur Folge haben, deren genaues Ausmaß leider noch unbekannt ist, weil noch keine dreidimensionale Struktur eines Polcalcins in der apo-Form bestimmt wurde (Abschnitt 5.6.6). Da die EF-Hände in praktisch allen EF-Hand-Proteinen gepaart vorkommen (Abschnitt 1.2.3), kann auch nicht unbedingt davon ausgeganden werden, dass die isolierten EF-Hände in der nativen Konformation vorliegen, und eine stöchiometrische Mischung aus der isolierten ersten EF-Hand und der

isolierten zweiten EF-Hand von Ole e 3 zeigte keine höhere IgE-Reaktivität als die Summe derer der einzelnen isolierten EF-Hände (Ledesma et al. 2002), so dass keine nichtkovalente Assoziation der beiden Fragmente zur Paarung der EF-Hände stattgefunden haben dürfte. Auch die deutlich reduzierte IgE-Reaktivität eines Fragments von Bet v 4, bei dem die NH<sub>2</sub>-terminalen Reste bis Phe 15 (Abb. 1.10) fehlen, identifiziert den NH<sub>2</sub>-terminalen Bereich noch lange nicht als IgE-Epitop, da gerade die aromatische Seitenkette von Phe 15 durch eine Reihe hydrophober Kontakte (Abb. 4.38) wesentlich zur Stabilisierung der Tertiärstruktur beitragen dürfte, der Faltungszustands dieses Fragments aber nicht mit untersucht wurde (Twardosz et al. 1997). Im Gegensatz zur Familie der mit Bet v 1 verwandten Allergene (Abschnitt 5.4) hilft bei den Polcalcinen auch eine Analyse der IgE-Kreuzreaktivitätsmuster bei der Identifizierung der kreuzreaktiven IgE-Epitope kaum weiter, da im Einklang mit der extrem hohen sequentiellen (Abb. 1.9) und strukturellen (Abb. 4.45) Verwandtschaft bisher fast keine Unterschiede in der IgE-Reaktivität der einzelnen Polcalcine festgestellt wurden (Abschnitt 1.2.4).

Es wurde aber auch ein experimenteller Befund veröffentlicht, der eine gewisse Aussage über die Lage der IgE-Epitope erlaubt. In dieser Studie wurden die jeweils 12 die Ca<sup>2+</sup>-Bindungsstellen darstellenden Aminosäuren der ersten und der zweiten EF-Hand des Polcalcins Cyn d 7 (Abschnitt 1.2.4) als Peptide synthetisiert. Im Gegensatz zum Peptid aus der ersten EF-Hand, das praktisch keine IgE-Reaktivität mehr besaß, konnte das Peptid aus der zweiten EF-Hand unabhängig von der Ca<sup>2+</sup>-Konzentration noch IgE-Antikörper binden und sogar die Bindung von IgE-Antikörpern aus einem Pool von Sera von Gräserpollenallergikern an rekombinantes Cyn d 7 teilweise inhibieren (Suphioglu et al. 1997). Dies legt nahe, dass die Ca<sup>2+</sup>-Bindungsstelle der zweiten EF-Hand in der Tat ein lineares IgE-Epitop von Cyn d 7 darstellt, das wegen der hohen Konserviertheit der Aminosäuresequenz in diesem Bereich (Abb. 1.9) zudem ein kreuzreaktives IgE-Epitop der Polcalcine darstellen dürfte, zumal die Zerstörung der Ca2+-Bindungsfähigkeit der zweiten EF-Hand von Bet v 4 durch Mutation der an der Ca<sup>2+</sup>-Ligation beteiligten Aminosäure Asp 54 (Abb. 1.10 und Abb. 4.34) zu einem Alanin die IgE-Reaktivität von Bet v 4 deutlich stärker beeinträchtigte als die äquivalente Mutation von Asp 19 zu einem Alanin in der ersten EF-Hand (Engel et al. 1997). Die hohe Konserviertheit der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$ , durch die sich die Polcalcine von den anderen EF-Hand-Proteinen abheben (Abb. 1.9, Abb. 1.10 und Abb. 4.45 bis 4.47), macht diese stark exponierte (Abb. 4.39) α-Helix eigentlich zu einem idealen Kandidaten für ein IgE-Epitop ohne Beeinträchtigung kreuzreaktives der Immuntoleranz gegenüber körpereigenen EF-Hand-Proteinen wie Calmodulin und Troponin C. Leider ist gerade dieser Bereich bei der Untersuchung der IgE-Reaktivität der Polcalcine bisher vernachlässigt worden, vielleicht weil eine Homologiemodellierung der dreidimensionalen Struktur der Polcalcine für diese Helix in allen Fällen eine falsche Lage und Orientierung vorhersagte (Hayek et al. 1998, Niederberger et al. 1999 und Tinghino et al. 2002 im Vergleich zu Abb. 4.34). Es ist zu hoffen, dass die Bestimmung der Kristallstruktur von holo Phl p 7 (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U) und der NMR-Struktur von holo Bet v 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) ein größeres Interesse an diesbezüglichen immunogischen Experimenten wecken können. Daneben muss die Interpretation des Einflusses der Ca<sup>2+</sup>-Bindung auf die IgE-Reaktivität endlich durch Bestimmung der dreidimensionalen Struktur der apo-Formen auf eine solidere Grundlage gestellt werden. Außerdem erfordert eine detailliertere Analyse der kreuzreaktiven IgE-Epitope der Polcalcine dringend die Herstellung und immunogische wie strukturelle Charakterisierung von Mutanten, deren mutierte Seitenketten selbst direkt an einem IgE-Epitop beteiligt sind. Dies ist zwar gerade im Bereich der beiden Ca<sup>2+</sup>-Bindungsstellen recht heikel, da dort nur wenige Aminosäuren ohne Beeinträchtigung der Funktionalität der EF-Hände mutiert werden können, worauf natürlich auch die hohe Konserviertheit der Aminosäuresequenz dieser Ca2+-Bindungsstellen bei fast allen EF-Hand-Proteinen (Abb. 1.10) letztendlich beruht. Die Bestimmung der Kristallstruktur von holo Phl p 7 (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U) und der NMR-Struktur von holo Betv 4 (Abschnitt 4.7.3.1, PDB-Kennung 1H4B) ermöglicht jetzt allerdings endlich eine gezielte Auswahl der lösungsmittelexponierten Seitenketten ohne erkennbar wichtige funktionelle und/oder strukturelle Rolle in der unmittelbaren räumlichen Umgebung der Ca<sup>2+</sup>-Bindungsstellen als Kandidaten für eine immunogisch interessante Punktmutation.

Ein weiteres Problem bei der IgE-Epitopanalyse stellt der Befund dar, dass holo Phl p 7 als durch Domain Swapping verursachtes Dimer vorliegt, da in den veröffentlichten immunologischen Experimenten an den Polcalcinen der Oligomerisierungszustand normalerweise nicht mit untersucht wurde und auch im Nachhinein nicht mehr feststellbar ist. Besonders trügerisch sind dabei Immunoblots, bei denen die Allergene vorher durch eine Gelelektrophorese unter denaturierenden Bedingungen getrennt wurden. Dies kann dazu führen, dass das Allergen bei der Gelelektrophorese als Monomer eingestuft wird, sich aber auf der für den Immunoblot verwendeten Membran als Dimer zurückfaltet und so die immunologischen Eigenschaften des Dimers festgestellt werden. Daher empfiehlt sich für die weitere immunologische Charakterisierung der Polcalcine ein vollständig unter nicht denaturierenden Bedingungen ablaufendes Protokoll, beispielsweise die Auftrennung und gleichzeitig die Bestimmung des

Oligomerisierungszustands durch Größenausschlusschromatographie gefolgt von einer immunologischen Charakterisierung in einem EAST. Gerade in diesem Zusammenhang ist auch die Klärung der noch unbekannten Ursache für das Domain Swapping von holo Phl p 7 (Abschnitt 5.6.7) besonders interessant, da ihre Kenntnis eine gezielte Beeinflussung des Monomer-Dimer-Gleichgewichts eines Polcalcins und so die direkte Verifizierung der immunologischen Äquivalenz der unterschiedlichen Oligomerisierungszustände ermöglichen dürfte. Die trotz des unterschiedlichen Oligomerisierungszustands praktisch identische Tertiärstruktur von holo Bet v 4 und holo Phl p 7 (Abb. 4.45) legt eine solche immunologische Äquivalenz tatsächlich sehr nahe und erklärt vor allem zusammen mit der hohen Sequenzidentität (Abb. 1.9) die beobachtete IgE-Kreuzreaktivität zwischen dem (auch in den immunologischen Experimenten vermutlich) monomeren holo Bet v 4 und dem (auch in den immunologischen Experimenten vermutlich) dimeren holo Phl p 7 (Abschnitt 1.2.4). Der Oligomerisierungszustand der Polcalcine könnte aber auch insofern von immunologischer Bedeutung sein, als ein durch Domain Swapping entstandenes Dimer im Vergleich zum Monomer die doppelte Anzahl an IgE-Epitopen präsentiert und daher durch eine effektivere Quervernetzung der auf der Oberfläche der Mastzellen gebundenen IgE-Antikörper (Abschnitt 1.1.1) vermutlich eine heftigere allergische Immunreaktion auslösen kann (Verdino et al. 2002).

#### 5.6.9 Implikationen für die physiologische Funktion

Sowohl die Aminosäuresequenz (Abschnitt 1.2.4) als auch die dreidimensionale Struktur (Abschnitt 4.7.7) von holo Bet v 4 zeigt eine signifikant höhere Ähnlichkeit zu EF-Hand-Proteinen mit einer regulatorischen Funktion wie Calmodulin und Troponin C als zu solchen mit einer Ionenspeicherfunktion wie Parvalbumin oder Calbindin  $D_{9k}$ . Die beiden EF-Hände von holo Bet v 4 liegen in Lösung in der offenen Form kanonischer EF-Hände vor (Abschnitt 4.7.7), so dass an der Moleküloberfläche eine tiefe hydrophobe Furche entsteht, die von der hochkonservierten amphipatischen COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$ , durch die sich die Polcalcine von den anderen EF-Hand-Proteinen abheben (Abb. 1.9, Abb. 1.10 und Abb. 4.45 bis 4.47), nur teilweise verdeckt wird (Abb. 4.39). Die zur Verfügung stehenden immunologischen, hydrodynamischen und spektroskopischen Daten zeigen eine erhebliche reversible Konformationsänderung bei Ca<sup>2+</sup>-Entzug und sind insbesondere konsistent mit der Annahme, die EF-Hände von apo Bet v 4 könnten wie die von apo Calmodulin in der geschlossenen Konformation vorliegen (Abschnitte 5.6.6 und 5.6.7). Zusammengenommen weisen diese Befunde eindeutig darauf hin, dass Bet v 4 eine regulatorische physiologische Funktion erfüllt, bei der die Ca<sup>2+</sup>-Konzentration das Öffnen bzw. Schließen der Konformation der EF-Hände steuert und

so durch Bindung eines hypothetischen Liganden an die vermutlich nur in der offenen Konformation zugängliche hydrophobe Furche eine Signaltransduktion ermöglicht.

Am besten untersucht ist diese Ligandenbindung an EF-Hand-Proteine mit regulatorischer Funktion glücklicherweise gerade bei Calmodulin, das sowohl von der Sequenzidentität (Abschnitt 1.2.4) als auch von der dreidimensionalen Struktur (Abschnitt 4.7.7) zu den engsten bekannten Verwandten der Polcalcine zählt. Calmodulin besteht aus zwei durch einen flexiblen Bereich verbundenen Subdomänen (Barbato et al. 1992) mit jeweils zwei gepaarten kanonischen EF-Händen (Abschnitte 1.2.3 und 1.2.4). Es dient in fast allen eukaryotischen Zellen als Sensor für die Ca<sup>2+</sup>-Konzentration und reguliert durch Ca<sup>2+</sup>-abhängige Bindung eine Vielzahl von Enzymen, Pumpen und anderen Proteinen (Stryer 1995, Kapitel 13). Eine Reihe von mit NMR-Spektroskopie oder Röntgenkristallographie bestimmten Komplexstrukturen von Calmodulin vor allem mit Kinasefragmenten (Ikura et al. 1992, PDB-Kennungen 2BBM und 2BBN; Meador et al. 1992, PDB-Kennung 1CDL; Meador et al. 1993, PDB-Kennung 1CDM; Wall et al. 1997, PDB-Kennungen 1CM1 und 1CM4; Osawa et al. 1999, PDB-Kennung 1CKK; Kurokawa et al. 2001, PDB-Kennung 1IQ5; Clapperton et al. 2002, PDB-Kennung 1MXE) zeigte, dass diese Promiskuität durch ein mit Variationen weitgehend gleiches Ligandenbindungsmotiv erreicht wird, obwohl mittlerweile auch einige diesem Motiv nicht folgende Komplexstrukturen bekannt sind (zusammengefasst in Hoeflich und Ikura 2002). Die typischen Liganden sind leicht positiv geladen und bilden im Komplex eine amphipatische  $\alpha$ -Helix, um die sich die beiden Subdomänen so wickeln, dass der Ligand mit den von negativ geladenen Resten gesäumten hydrophoben Furchen beider Subdomänen hydrophobe und elektrostatische Kontakte eingeht. Besonders wichtig sind dabei zwei als Ankerreste bezeichnete hydrophobe Reste im Abstand von 9 (so genanntes 1-5-10-Motiv) oder 13 Resten (so genanntes 1-8-14-Motiv) des Liganden (Rhoads und Friedberg 1997), von denen der erste meist ein Tryptophan darstellt und in die hydrophobe Furche der COOHterminalen Subdomäne packt und der zweite in die hydrophobe Tasche der NH<sub>2</sub>-terminalen Subdomäne packt; die die beiden Subdomänen verbindende Schleife von Calmodulin ist flexibel genug, diesen um eine Helixwindung voneinander abweichenden Abständen der Ankerreste durch unterschiedliche Positionierung der beiden Subdomänen Rechnung zu tragen (Kurokawa et al. 2001). Die Orientierung des Liganden im Komplex mit Calmodulin wird dabei vor allem durch die elektrostatischen Kontakte vermittelt, da die COOH-terminale Subdomäne von Calmodulin stärker negativ geladen ist als die NH2-terminale Subdomäne und deswegen in der Regel den NH2-seitigen Ankerrest des Liganden bindet, der meist von basischen Resten umgeben ist.

Betrachtet man die auf Seiten von holo Calmodulin an der hydrophoben Wechselwirkung mit den Ankerresten beteiligten Reste genauer, dann stellt man anhand des strukturbasierten Sequenzalignments (Abb. 1.10) fest, dass alle zu diesen Resten äquivalenten Aminosäuren auch bei Bet v 4 eine hydrophobe Seitenkette besitzen (Phe 18, Ile 26, Leu 31, Leu 35, Met 49, Met 50, Ile 53, Ile 61, Phe 66, Phe 69, Gly 70). Bei Calmodulin findet man an diesen Positionen insbesondere vier Methionine, deren Methylgruppen durch die vielen Freiheitsgrade der Seitenkette besonders anpassungsfähig an verschiedene Liganden mit verschiedenen hydrophoben Ankerresten sind (Chou et al. 2001). Außerdem wird auch die hydrophobe Furche von holo Bet v 4 vorwiegend von negativ geladenen Resten gesäumt (Abb. 4.39), allerdings sind von den drei an elektrostatischen Kontakten mit dem Liganden beteiligten negativ geladenen Glutamaten von holo Calmodulin lediglich zwei konserviert (Glu 10 und Glu 45), während das dritte durch das positiv geladene Arg 13 ersetzt ist (Abb. 1.10 und Abb. 4.39). Daher erscheint es nicht unwahrscheinlich, dass die hypothetische Ligandenbindung von holo Bet v 4 nach dem gleichen Muster vor sich geht, obwohl der hypothetische Ligand eine geringere positive Nettoladung aufweisen dürfte als die Liganden von holo Calmodulin. Sollte diese Hypothese richtig sein, müsste holo Bet v 4 dabei durch gleichzeitige Bindung zweier Moleküle die Rolle beider Subdomänen von holo Calmodulin übernehmen. Außerdem müsste die COOH-terminale Helix  $\alpha_5$  den Teil der hydrophoben Furche freigeben, den sie abdeckt (Abb. 4.39). In ersten Modellierungen solcher Komplexstrukturen konnte jedoch unter der Annahme, dass dazu lediglich die Torsionswinkel des Proteinrückgrats von Asn 73 zwischen den Helices  $\alpha_4$  und  $\alpha_5$  zur Verfügung stehen, keine befriedigende Lösung gefunden werden, bei der weder sterische Konflikte auftreten noch die hydrophobe Seite der amphipatischen Helix  $\alpha_5$  lösungsmittelexponiert ist (S. Reisdorf, P. Neudecker, P. Rösch und H. Sticht, unveröffentlicht). Dies spricht eher für eine stöchiometrische Ligandenbindung. In der Tat sind auch Komplexstrukturen bekannt, bei denen der Ligand ausschließlich in die hydrophobe Furche der COOH-terminalen Subdomäne von holo Calmodulin bindet (Elshorst et al. 1999, PDB-Kennung 1CFF; Yamauchi et al. 2003, PDB-Kennung 1IWQ). Eine Modellierung von holo Bet v 4 im hypothetischen Komplex mit einem Fragment der Ca2+-Pumpe auf der Grundlage der NMR-Struktur von holo Calmodulin mit diesem Fragment (Elshorst et al. 1999, PDB-Kennung 1CFF) lieferte tatsächlich eine gute Packung der COOH-terminalen Helix  $\alpha_5$  mit dem helikalen Liganden, wenn auch die Konformation des Proteinrückgrats von Asn 73 als α-helikal angenommen wird (S. Reisdorf, P. Neudecker, P. Rösch und H. Sticht, unveröffentlicht). Die hydrophoben Wechselwirkungen mit dem Indoldoppelring des Tryptophans des Fragments der Ca<sup>2+</sup>-Pumpe, das in diesem Fall natürlich den einzigen Ankerrest darstellt, werden in dieser hypothetischen Komplexstruktur im Wesentlichen durch die gleichen hydrophoben Seitenketten von holo Bet v 4 zur Verfügung gestellt wie bei den obigen hypothetischen Komplexstrukturen (Phe 18, Ile 26, Leu 31, Leu 35, Met 49, Met 50, Ile 53, Ile 61 und Phe 69). Diese Modellierungen erlauben eine gewisse Vorauswahl potentieller Peptidliganden, letztendlich muss aber das Experiment entscheiden, welche Liganden mit welcher Stöchiometrie tatsächlich an holo Bet v 4 binden. Zwar ist gerade die NMR-Spektrokopie für die Untersuchung einer solchen Ligandenbindung hervorragend geeignet, vorher bietet sich jedoch ein Screening potentieller Peptidliganden durch Beobachtung der intrinsischen Tryptophanfluoreszenz des Ankerrests an, da dafür weniger Probenmaterial benötigt wird als für NMR-spektroskopische Untersuchungen.

Die Bestimmung der Kristallstruktur von holo Phl p 7 (Verdino et al. 2002, PDB-Kennung 1K9U), wirft natürlich die Frage nach der physiologischen Relevanz des durch Domain Swapping verursachten Dimers auf, das nicht mit einem durch gleichzeitige Bindung eines Peptidliganden etwa nach dem typischen Ligandenbindungsmuster von holo Calmodulin gebildeten Dimer verwechselt werden sollte, da dort die EF-Hand-Paarung nach wie vor intramolekular stattfindet. Die durch Domain Swapping verursachte Dimerisierung schneidet die hydrophoben Furchen der beiden Monomere vollständig vom Lösungsmittel ab, so dass im Innern des Dimers ein nicht lösungsmittelzugänglicher hydrophober Hohlraum entsteht (Verdino et al. 2002). Ein solcher hydrophober Hohlraum lässt wie schon bei den mit Bet v 1 verwandten Allergenen und PR-10-Proteinen (Abschnitt 5.3) eher ein niedermolekulares organisches Molekül denn ein Protein bzw. Proteinfragment als Liganden erwarten. In der Tat wurde in diesem Hohlraum von holo Phl p 7 eine diffuse Elektronendichte beobachtet, die jedoch nicht interpretiert werden konnte. Da die dreidimensionale Struktur des ebenfalls als Dimer vorliegenden apo Phl p 7 noch völlig unbekannt ist, ist auch nicht bekannt, ob diese dimere apo-Form den Hohlraum lösungsmittelzugänglich macht und so die Assoziation bzw. Dissoziation des hypothetischen Liganden ermöglicht (Verdino et al. 2002). Alternativ wäre prinzipiell auch denkbar, dass erst die Anwesenheit eines solchen Liganden die Dimerisierung durch Domain Swapping auslöst. Auch diese Hypothesen sind letztendlich durch das Experiment zu entscheiden.

### 5.7 NMR-spektroskopische Charakterisierung von Pyr c 5

Die ausgezeichnete spektrale Dispersion der homonuklearen NMR-Spektren von Pyr c 5 (Abb. 4.48 und Abb. 4.49), dessen Tertiärstruktur wie in Abschnitt 1.2.5 beschrieben noch

völlig unbekannt ist, lässt auf ein globulär gefaltetes Protein mit einer gemischten  $\alpha/\beta$ -Sekundärstruktur schließen und ist sehr ermutigend in Hinblick auf eine Bestimmung seiner dreidimensionalen Struktur in atomarer Auflösung, die angesichts der relativen Molekülmasse von etwa 33,8 kDa allerdings die Herstellung einer Reihe von unterschiedlich isotopenmarkierten Proben und die Verwendung speziell optimierter Pulssequenzen erfordern dürfte (zusammengefasst in Kay 2001). Eine sequenzspezifische Zuordnung der Amidresonanzen des Proteinrückgrats würde allerdings bereits für NMR-Titrationsexperimente ausreichen, um erste Details über den katalytischen Mechanismus der Phenylcoumarin-Benzylether-Reduktasen zu erhalten, beispielsweise ob die hochkonservierte glycinreiche Sequenz der Reste 11 bis 18 (Abb. 1.11) tatsächlich wie erwartet die NADPH-Bindungstelle darstellt (Abschnitt 1.2.5), welche Reste an der Kataylse beteiligt sind und wie die Kinetik der Katalyse aussieht. Zudem konnte aus den homonuklearen NMR-Spektren bereits die Resonanz des HE1-Atoms von Trp 230 identifiziert werden (Abschnitt 4.8), dessen hohe Konserviertheit unter den mit Bet v 6 verwandten Allergenen und den Isoflavon-Reduktase-artigen Proteinen (Abb. 1.11; Karamloo et al. 2001b; Kawamoto et al. 2002) eine wichtige strukturelle und/oder funktionelle Rolle vermuten lässt.

### 5.8 Ausblick

Aus den im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnissen ergeben sich eine ganze Reihe von Ansatzpunkten für weitergehende Untersuchungen, die hier noch einmal kurz zusammengestellt und ausgeführt werden sollen.

Auch im Rahmen dieser Arbeit konnte die physiologische Funktion der mit Bet v 1 verwandten Allergene nicht endgültig geklärt werden. Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente und theoretischen Überlegungen deuten jedoch eindeutig auf niedermolekulare organische Moleküle als potentielle Liganden hin (Abschnitt 5.3.3). Die vielversprechendste Spur stellt zweifellos die vor kurzem gemachte Entdeckung des an der Biosynthese von Hypericin beteiligten Enzyms Hyp-1 dar (Bais et al. 2003). An diesem Punkt sollte zunächst einmal durch Aktivitätstests experimentell geklärt werden, ob auch die mit Bet v 1 verwandten Allergene und PR-10-Proteine die gleiche katalytische Funktion erfüllen können. Dann gilt es, den katalytischen Mechanismus von Hyp-1 im Detail aufzuklären, was insbesondere die Bestimmung der Komplexstrukturen erfordert. Dies dürfte dadurch erleichtert werden, dass neben dem Substrat Emodin auch bereits drei Inhibitoren bekannt sind (Bais et al. 2003), und außerdem lässt der aromatische Charakter dieser Liganden ausgeprägte Ringstromeffekte in den NMR-Spektren (Wüthrich 1986, Abschnitt 3.1) erwarten.

Durch eine parallele immunologische und strukturelle Charakterisierung von Mutanten von Pru av 1 und Api g 1.0101 konnte nachgewiesen werden, dass die P-Schleife um Glu 45 eines der kreuzreaktiven IgE-Epitope darstellt, was bereits wesentliche Aspekte der klinisch beobachteten Kreuzreaktionsmuster auf mit Bet v 1 verwandte Nahrungsmittelallergene erklärt (Abschnitt 5.4.3). Eine experimentelle Verifizierung der durch Homologiemodellierung vorhergesagten Konformation der modifizierten P-Schleife von Api g 1.0101 (Abschnitt 5.4.3), die für seine besonderen immunologischen Eigenschaften zumindest mitverantwortlich ist, durch Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von Api g 1.0101 in atomarer Auflösung wäre zwar sehr interessant, allerdings auch sehr aufwendig. Da die allergische Immunreaktion auslösende Quervernetzung zweier auf der Oberfläche einer Mastzelle gebundener IgE-Antikörper (Abschnitt 1.1.1) mindestens zwei IgE-Epitope auf der Moleküloberfläche jedes Allergens erfordert, müssen für ein vollständiges Verständnis der Kreuzreaktionsmuster auch die verbleibenden kreuzreaktiven IgE-Epitope von Pru av 1 identifiziert werden. Neben der immunologischen und strukturellen Charakterisierung weiterer Mutanten von Pru av 1 lassen sich IgE-Epitope auch durch Herstellung monoklonaler Antikörper und Bestimmung der Komplexstruktur oder Beobachtung von Veränderungen der chemischen Verschiebungen des Allergens bei Antikörperbindung direkt identifizieren (Mirza et al. 2000); wegen der Größe jedoch solcher Antikörper müssen NMR-spektroskopische Untersuchungen mit Antikörperfragmenten durchgeführt werden (Kroon et al. 1999; Meininger et al. 2000).

Mit der fast vollständigen sequenzspezifischen Zuordnung der Resonanzen (Abschnitt 4.6.1), der Sammlung der ersten experimentellen Randbedingungen (Abschnitt Abschnitt 4.6.2) und der Messung eines umfangreichen Satzes an mehrdimensionalen, meist heteronuklear-editierten NOESY-Spektren (Tab. 3.1) wurden alle wesentlichen erforderlichen Grundlagen für eine zügige Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von Gly m 4 in atomarer Auflösung gelegt. Diese ist durch Identifizierung von Abstandsbeschränkungen aus NOE-Kreuzresonanzen in diesen NOESY-Spektren und Berechnung der Struktur von Gly m 4 abzuschließen. Auf der Grundlage der fertigen Struktur ist dann zu entscheiden, welche weitergehenden Untersuchungen an Gly m 4 zur Klärung seiner immunologischen Eigenschaften und physiologischen Funktion beitragen können.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte außerdem die Struktur von holo Bet v 4 in atomarer Auflösung bestimmt werden (Abschnitt 4.7.3.1). Alle experimentellen Befunde weisen darauf hin,

dass die Bindung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen an Bet v 4 eine reversible Konformationsänderung auslöst, die sowohl für die IgE-Reaktivität als auch für die physiologische Funktion der Polcalcine wesentlich ist (Abschnitt 5.6.6). Daher besitzen die Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von apo Bet v 4 in atomarer Auflösung sowie die weitere Charakterisierung der Ca<sup>2+</sup>-Bindung hinsichtlich ihrer Spezifität, Affinität und Kinetik hohe Priorität. Für beide Vorhaben ist gerade die NMR-Spektroskopie besonders gut geeignet, zumal die Strukturen der apo-Formen typischer EF-Hand-Proteine wie Calmodulin oder Calbindin D<sub>9k</sub> im Gegensatz zu denen ihrer holo-Formen, die bereits frühzeitig mit Röntgenkristallographie bestimmt wurden, erst durch NMR-Spektroskopie bestimmt werden konnten, was auf eine schlechte Kristallisierbarkeit hinweist. Auch die weitere Untersuchung des Oligomerisierungszustands der Polcalcine mit dem Ziel der Klärung der immunologischen und physiologischen Relevanz des bei holo Phl p 7 beobachteten Domain Swapping ist hochinteressant, wozu insbesondere Mutationsstudien im Bereich der die beiden EF-Hände verbindenden Schleife geeignet erscheinen. Angesichts der extrem hohen Stabilität der holo-Formen der Polcalcine ist dabei auch verstärkt auf langfristige Kinetiken zu achten. Die Lage der Epitope auf der Moleküloberfläche von holo Bet v 4 ist noch weitgehend unbekannt, da alle bisher immunologisch untersuchten Mutanten und Fragmente eine gegenüber dem Wildtyp global veränderte Tertiärstruktur aufweisen dürften. Zur Identifizierung der IgE-Epitope sollten daher wie in Abschnitt 5.6.8 vorgeschlagen und bei Pru av 1 exemplarisch durchgeführt Mutationen potentiell direkt an einem IgE-Epitop beteiligter lösungsmittelexponierter Seitenketten ohne erkennbar wichtige funktionelle und/oder strukturelle Rolle eingeführt und parallel sowohl immunologisch als auch strukturell charakterisiert werden. Die im Rahmen dieser Arbeit bestimmte sehr hochaufgelöste dreidimensionale Struktur von holo Betv4 stellt dabei eine solide Grundlage für die Identifizierung solcher Seitenketten als Mutationskandidaten dar. Als Ansatz für weitergehende Untersuchungen zur Klärung der physiologischen Funktion von Bet v 4 bietet sich wie in Abschnitt 5.6.9 beschrieben ein Screening potentieller Peptidliganden an, die durch auf bekannten Komplexstrukturen aufbauenden Modellierungen identifiziert wurden (S. Reisdorf, P. Neudecker, P. Rösch und H. Sticht, unveröffentlicht), wofür zunächst die Beobachtung der intrinsischen Tryptophanfluoreszenz des Ankerrests dieser Peptidliganden als besonders geeignet erscheint, gefolgt von einer detaillierteren Charakterisierung der Wechselwirkung bis hin zur Bestimmung der Komplexstruktur mit NMR-Spektroskopie. Auf der Grundlage der dabei identifizierten Peptidliganden müssten dann mit Hilfe bioinformatischer Methoden potentielle Zielproteine, beispielweise aus der ebenfalls zwei Polcalcine besitzenden Ackerschmalwand (Arabidopsis thaliana; Abschnitt 1.2.4), deren Genom bereits vollständig sequenziert wurde, identifiziert und anschließend experimentell verifiziert werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte NMR-spektroskopische Charakterisierung von Pyr c 5 (Abschnitt 4.8) stellt lediglich einen ersten Schritt auf dem Weg zur Bestimmung seiner dreidimensionalen Struktur in atomarer Auflösung dar. Angesichts seiner relativen Molekülmasse von 33,8 kDa ist die Strukturbestimmung von Pyr c 5 nicht mehr mit den routinemäßig zur Strukturbestimmung eingesetzten NMR-spektroskopischen Methoden möglich, sondern erfordert wie bereits in Abschnitt 5.7 beschrieben die Herstellung einer Reihe von unterschiedlich isotopenmarkierten Proben und die Verwendung speziell optimierter NMR-Techniken, erscheint aber gerade angesichts seiner guten Löslichkeit (Abschnitt 3.1.1) und der guten spektralen Dispersion (Abschnitt 4.8) durchaus realisierbar.

### 6. Zusammenfassung

Die Birkenpollenallergie ist eine der häufigsten allergischen Erkrankungen in Nord- und Mitteleuropa und Nordamerika. Das 17,4 kDa schwere Hauptbirkenpollenallergen Bet v 1 ist bei mehr als 90 % der Birkenpollenallergiker für die Bindung der IgE-Antikörper verantwortlich, und Kreuzreaktionen von für Bet v 1 spezifischen IgE-Antikörpern mit eng verwandten Proteinen wie Cor a 1.0401 aus Haselnüssen, Pru av 1 (früher Pru a 1) aus Kirschen, Pyr c 1 aus Birnen, Mal d 1 aus Äpfeln, Gly m 4 (ursprünglich SAM22) aus Sojabohnen und Api g 1 aus Sellerie verursachen bei bis zu 70 % dieser Patienten allergische Reaktionen nach dem Verzehr von frischen Nüssen, Obst oder Gemüse. Allergische Reaktionen gegen Pollen führen zu klinischen Syndromen wie Heuschnupfen, Asthma und Dermatitis; nach dem Verzehr von Nahrungsmitteln zeigen sich Symptome vor allem im Mund- und Rachenraum und reichen von einem Jucken und Anschwellen der Lippen, der Zunge und des Rachens bis hin zum anaphylaktischen Schock. Die physiologische Funktion dieser Allergene ist noch unbekannt. Sie zeigen eine hohe Sequenzidentität mit der PR-10-Familie von mit Krankheitsbefall zusammenhängenden und stressinduzierten Proteinen, scheinen aber konstitutiv exprimiert zu werden. Die bekannten dreidimensionalen Strukturen von Bet v 1, Pru av 1 und zwei eng verwandten PR-10-Proteinen aus der gelben Lupine zeigen einen ungewöhnlich großen hydrophoben Hohlraum im Innern, der daher für ihre physiologische Funktion wichtig sein dürfte. Die strukturelle Homologie mit der START-Domäne von menschlichem MLN64, das mit dem Cholesterintransport in Verbindung gebracht wird, deutet auf Phytosteroide als potentielle Liganden hin. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten NMR-spektroskopischen Untersuchungen erbrachten den experimentellen Nachweis, dass der hydrophobe Hohlraum von Pru av 1 mit dem Brassinosteroid 28-Homocastasteron und ebenso mit dem Steroid Desoxycholat wechselwirkt. Modellierungen zeigten, dass der hydrophobe Hohlraum groß genug für die Aufnahme von zwei solchen Molekülen ist, und erlaubten die Vorhersage der Struktur von Pru av 1 im Komplex mit zwei Brassinosteroid-Molekülen mit bemerkenswerter Genauigkeit, wie die vor kurzem bestimmte Kristallstruktur von Bet v 1.1001 im Komplex mit zwei Desoxycholat-Molekülen offenbarte. Alternativ wäre der hydrophobe Hohlraum auch groß genug für die Aufnahme eines einzelnen Phospholipids mit Fettsäureseitenketten von jeweils bis zu etwa 18 Kohlenstoffatomen.

Die molekulare Grundlage für die klinisch beobachtete IgE-Kreuzreaktivität zwischen Bet v 1 und Pru av 1 stellt die fast vollständige Identität ihrer Tertiärstrukturen dar. Um kreuzreaktive IgE-Epitope zu identifizieren, wurden in Zusammenarbeit mit der Abteilung Allergologie des Paul-Ehrlich-Instituts gleichzeitig die immunologischen und strukturellen Eigenschaften von mehreren Mutanten von Pru av 1 und Api g 1.0101 mit Immunoblots, EAST, CD- und NMR-Spektroskopie untersucht. Die Mutation E45W im Bereich der P-Schleife, einem bekannten IgE-Epitop von Bet v 1, reduzierte die IgE-Bindung an Pru av 1 bei manchen Patienten erheblich. Die Konformation des Proteinrückgrats von Pru av 1 wt ist in der hochaufgelösten dreidimensionalen Struktur von Pru av 1 E45W in Lösung konserviert, was zeigt, dass die Seitenkette von Glu 45 an einem kreuzreaktiven IgE-Epitop beteiligt ist. Dementsprechend wurde bei manchen Patienten die IgE-Bindung an Api g 1.0101 durch die Mutation K44E erhöht. Der fast vollständige Verlust der IgE-Bindung an Pru av 1 S112P ist die Folge einer Zerstörung der Tertiärstruktur. Weder die Mutation S112A noch die Deletion der COOH-terminalen Reste 155-159 beeinflusste die IgE-Bindung an Pru av 1. Die Struktur der P-Schleife um Glu 45 erklärt somit teilweise das klinisch beobachtete IgE-Kreuzreaktionsmuster und eine Veränderung der IgE-Bindung durch ortsgerichtete Mutagenese von Glu 45 stellt einen vielversprechenden Ansatz zur Entwicklung hypoallergener Varianten für eine auf den Patienten zugeschnittene spezifische Immuntherapie dar.

Vor kurzem wurde beobachtet, dass das stressinduzierte PR-10-Protein Gly m 4 bei Birkenpollenallergikern schwere orale und anaphylaktische Reaktionen auslösen kann. Obwohl sojabasierte Proteine als einer der wichtigsten Nährstoffe der Familie Leguminosae angesehen werden, haben sich detaillierte Studien sojahaltiger Nahrungsmittelprodukte, die eine Einschätzung des Allergierisikos erlauben, bisher weitgehend auf andere Sojabohnenallergene und pädiatrische Patienten beschränkt, und die hochaufgelöste Struktur von Gly m 4 ist eine Voraussetzung für ein detailliertes Verständnis der beobachteten Immunkreuzreaktivität auf der molekularen Ebene. Als Ausgangspunkt zur Schließung der strukturellen Lücke zwischen der konstitutiv exprimierten Bet v 1-Familie von Allergenen und der stressinduzierten PR-10-Familie von mit Krankheitsbefall zusammenhängenden Proteinen wurde der Großteil der <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- und <sup>15</sup>N-Resonanzen von Gly m 4 auf der Grundlage mehrdimensionaler heteronuklearer NMR-Daten zugeordnet. Die Aufnahme einer Reihe meist heteronuklear-editierter NOESY-Spektren vervollständigte den für die Bestimmung der hochaufgelösten dreidimensionalen Struktur von Gly m 4 in der nahen Zukunft notwendigen Satz an NMR-Spektren. Eine Analyse der chemischen Verschiebungen, skalaren Kopplungskonstanten und dipolaren Kopplungskonstanten bestätigt ein auf der Grundlage von Pru av 1 und Bet v 1 erstelltes Homologiemodell, was darauf hindeutet, dass die klinisch beobachtete IgE-Kreuzreaktivität zwischen Bet v 1 und Gly m 4 ebenfalls auf einer praktisch identischen Tertiärstruktur beruht.

Zwischen 5 % und 20 % der Birkenpollenallergiker zeigen auch oder ausschließlich IgE-Antikörper gegen das 9,4 *kDa* schwere Nebenbirkenpollenallergen Bet v 4, ein aus zwei EF-Händen bestehendes Ca<sup>2+</sup>-bindendes Polcalcin. Wegen der hohen IgE-Kreuzreaktivität der Polcalcine, die mehr als 65 % Sequenzidentität aufweisen, sind viele Patienten auf Pollen verschiedenster Pflanzen polysensibilisiert. Um einen Ausgangspunkt für die Untersuchung der Kreuzreaktivität auf der strukturellen Ebene zu schaffen, bestand eines der Hauptziele dieser Arbeit in der Bestimmung der hochaufgelösten dreidimensionalen Struktur von holo Bet v 4 in Lösung durch mehrdimensionale heteronukleare NMR-Spektroskopie. Holo Bet v 4 bildet ein kanonisches EF-Hand-Paar in der offenen Konformation, wobei die Winkel zwischen den Helices denen von holo Calmodulin sehr ähnlich sind. Eine Koordination jedes der beiden Ca<sup>2+</sup>-Ionen durch sechs Sauerstoffatome des Proteins und ein Wassermolekül an den Ecken einer pentagonalen Bipyramide wie bei Calmodulin steht im Einklang mit den experimentellen Daten. Die hochkonservierte polcalcinspezifische amphipatische COOH-terminale  $\alpha$ -Helix deckt lediglich einen Teil der großen hydrophoben Furche auf der Moleküloberfläche von holo Bet v 4 ab. Anders als das Polcalcin Phl p 7 aus dem Wiesenlischgras, für das vor kurzem eine durch Domain Swapping entstandene dimere Struktur nachgewiesen wurde, zeigen die Autokorrelationszeiten der Rotationsdiffusion aus NMR-Relaxation und die hydrodynamischen Radien aus NMR-Translationsdiffusion und analytischer Ultrazentrifugation, dass sowohl apo als auch holo Bet v 4 in Lösung um pH 6 auch in millimolaren Konzentrationen vorwiegend monomer sind, mit einem aus der analytischen Ultrazentrifugation bestimmten Dimeranteil von etwa 15 %. Dies wirft die Frage nach der physiologischen und immunologischen Bedeutung der dimeren Form dieser Polcalcine auf, deren physiologische Funktion noch unbekannt ist. Die geringere Dispersion der chemischen Verschiebungen der NMR-Spektren und der etwas größere hydrodynamische Radius von apo Bet v 4 weisen auf eine reversible Änderung der Struktur bei Ca<sup>2+</sup>-Bindung hin, was die geringere IgE-Bindungsfähigkeit von apo Bet v 4 erklärt. Trotz ihrer unterschiedlichen Oligomerisierungszustände sind die Sekundär- und Tertiärstrukturen von holo Bet v 4 und holo Phl p 7 bemerkenswert ähnlich, was eine zwanglose Erklärung für die klinisch beobachtete IgE-Kreuzreaktivität liefert und darauf hindeutet, dass kanonische Monomere und durch Domain Swapping verursachte Dimere von ähnlicher Allergenizität sind. Zusammen mit der engen strukturellen Homologie zu Calmodulin und der großen hydrophoben Furche auf der Moleküloberfläche weist diese Änderung der Struktur eher auf eine regulatorische denn auf eine Ca<sup>2+</sup>-Speicherfunktion für Bet v 4 hin.

Etwa 12 % der Birkenpollenallergiker zeigen auch oder ausschließlich IgE-Antikörper gegen das 34,2 kDa schwere Nebenbirkenpollenallergen Bet v 6 (früher Bet v 5), das hochgradig IgE-kreuzreaktiv mit Pyr c 5 aus Birnen ist. Die Tertiärstruktur dieser Phenylcoumarin-

Benzylether-Reduktasen ist noch völlig unbekannt. Die homonuklearen NMR-Spektren von Pyr c 5 zeigen eine ausgezeichnete Dispersion der chemischen Verschiebungen, was auf eine gemischte  $\alpha/\beta$ -Sekundärstruktur hindeutet und für die Bestimmung der hochaufgelösten dreidimensionalen Struktur sehr ermutigend ist.

Im Lauf dieser Projekte wurden zwei methodische Verbesserungen der Strukturberechnung entwickelt und analysiert. Der Ausschluss vernachlässigbarer Terme durch Einführung eines geeigneten Grenzwerts sparte einen erheblichen Teil der durch die Verwendung des gaußförmigen Datenbank-Potentials verursachten Zunahme des Rechenzeitbedarfs ein, ohne die Qualität der resultierenden Strukturen zu beeinträchtigen. Außerdem wurden mehrere Inkonsistenzen in der Standardparametrisierung der kovalenten Geometrie des Kraftfelds beseitigt.

### 7. Summary

Birch pollinosis is one of the prevailing allergic diseases in Northern and Central Europe and Northern America. The 17.4 kDa major birch pollen allergen Bet v 1 is responsible for IgE antibody binding in more than 90 % of birch pollinotics, and cross-reaction of Bet v 1 specific IgE antibodies with highly homologous proteins like Cor a 1.0401 from hazelnut, Pru av 1 (formerly Pru a 1) from cherry, Pyr c 1 from pear, Mal d 1 from apple, Gly m 4 (originally SAM22) from soy bean and Api g 1 from celery causes allergic reactions in up to 70 % of these patients after consumption of fresh nuts, fruit or vegetables. Allergic reactions against pollen lead to clinical syndromes like hay fever, asthma, and dermatitis; after ingestion of foodstuff allergic reactions are most often located in the oropharynx and include from itching and swelling of lips, tongue and throat, to anaphylactic shock. The physiological function of these allergens is still unknown. They show high sequence identity to the PR-10 family of pathogenesis-related and stress-induced proteins but seem to be expressed constitutively. The known three-dimensional structures of Bet v 1, Pru av 1, and two closely related PR-10 proteins from yellow lupine show an unusually large internal hydrophobic cavity, which can therefore be expected to be important for their physiological function. Structural homology to the START domain of human MLN64 associated with cholesterol transport suggests phytosteroids as putative ligands. The NMR spectroscopic studies carried out in this work provided experimental evidence that the hydrophobic cavity of Pru av 1 interacts with the brassinosteroid 28-homocastasterone and also with the steroid deoxycholate. Molecular modelling showed that the hydrophobic cavity is large enough to accommodate two such molecules and allowed the prediction of the structure of Pru av 1 in complex with two brassinosteroid molecules with remarkable accuracy as revealed by the recently determined crystal structure of Bet v 1.1001 in complex with two deoxycholate molecules. Alternatively, the hydrophobic cavity would also be large enough to accommodate a single phospholipid with fatty acid side-chains of up to about 18 carbon atoms each.

The molecular basis for the clinically observed IgE cross-reactivity between Bet v 1 and Pru av 1 is provided by the virtual identity of their tertiary structures. To define cross-reactive IgE binding epitopes the immunological and structural properties of several mutants of Pru av 1 and Api g 1.0101 were analyzed simultaneously in collaboration with the Department of Allergology of the Paul-Ehrlich-Institute by immunoblotting, EAST, CD and NMR spectroscopy. The mutation E45W in the P-loop region, a known IgE epitope of Bet v 1, significantly reduced IgE binding to Pru av 1 in a subgroup of cherry-allergic patients. The backbone conformation of Pru av 1 wt is conserved in the high-resolution three-

dimensional structure of Pru av 1 E45W in solution, demonstrating that the side-chain of Glu 45 is involved in a cross-reactive IgE epitope. Accordingly, for a subgroup of celeryallergic patients IgE binding to Api g 1.0101 was enhanced by the mutation K44E. The almost complete loss of IgE reactivity to Pru av 1 S112P is due to disruption of its tertiary structure. Neither the mutation S112A nor deletion of the COOH-terminal residues 155-159 influenced IgE binding to Pru av 1. The structure of the P-loop around Glu 45 therefore partially explains the clinically observed IgE cross-reactivity pattern and modulation of IgE binding by sitedirected mutagenesis of Glu 45 is a promising approach to develop hypoallergenic variants for patient-tailored specific immunotherapy.

The stress-induced PR-10 protein Gly m4 was recently observed to cause severe oropharyngeal and anaphylactic reactions in birch pollinotics. Although soy-derived proteins are considered one of the most important nutrients of the legume family, detailed studies that may allow an allergic risk assessment of soy-containing dietary products have largely been restricted to other soy bean allergens and pediatric patients so far, and the high-resolution three-dimensional structure of Gly m 4 is a prerequisite for a detailed understanding of the observed immune cross-reactivity on the molecular level. As a starting point to bridge the structural gap between the constitutively expressed Bet v 1 family of allergens and the stressinduced PR-10 family of pathogenesis-related proteins, the vast majority of the <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, and <sup>15</sup>N resonances of Gly m 4 were assigned based on multidimensional heteronuclear NMR data. Acquisition of a series of mostly heteronuclear-edited NOESY spectra completed the set of NMR spectra necessary for the determination of the high-resolution three-dimensional structure of Gly m 4 in the near future. Analysis of the chemical shifts, scalar coupling constants and dipolar coupling constants confirms a homology model of Gly m 4 created on the basis of Pru av 1 and Bet v 1, indicating that the clinically observed IgE cross-reactivity between Bet v 1 and Gly m 4 is also based on a virtually identical tertiary structure.

Between 5 % and 20 % of birch pollinotics also or exclusively show IgE antibodies against the 9.4 kDa minor birch pollen allergen Bet v 4, a two EF-hand Ca<sup>2+</sup>-binding polcalcin. Due to the high IgE cross-reactivity among the polcalcin family of pollen allergens, which share more than 65 % sequence identity, many patients are polysensitized to various plant pollens. To provide a basis for examining the cross-reactivity on a structural level, one of the major objectives of this work was the determination of the high-resolution three-dimensional structure of holo Bet v 4 in solution by heteronuclear multidimensional NMR spectroscopy. Holo Bet v 4 adopts the canonical two EF-hand assembly in the open conformation with interhelical angles closely resembling those of holo calmodulin. A coordination of each of the two  $Ca^{2+}$  ions by six protein oxygen atoms and a water molecule at the vertices of a pentagonal bipyramid as in calmodulin is consistent with the experimental data. The highly

pentagonal bipyramid as in calmodulin is consistent with the experimental data. The highly conserved polcalcin-specific amphipatic COOH-terminal  $\alpha$ -helix covers only a part of the large hydrophobic groove on the molecular surface of holo Bet v 4. Unlike the pocalcin Phl p 7 from timothy grass, which was recently shown to adopt a domain-swapped dimeric structure, the rotational diffusion correlation times from NMR relaxation and the hydrodynamic radii from NMR translational diffusion and analytical ultracentrifugation indicate that both apo and holo Bet v 4 are predominantly monomeric in solution near pH 6 up to millimolar concentrations, with dimer fractions of about 15 % as determined by analytical ultracentrifugation. This raises the question of the physiological and immunological significance of the dimeric form of these polcalcins, whose physiological function is still unknown. The reduced chemical shift dispersion of the NMR spectra and the slightly increased hydrodynamic radius of apo Bet v 4 indicate a reversible structural transition upon Ca<sup>2+</sup> binding, which explains the reduced IgE binding capacity of apo Bet v 4. In spite of their different oligomerization states the secondary and tertiary structures of holo Bet v 4 and holo Phl p 7 are remarkably similar, thus providing a straightforward explanation for the clinically observed IgE cross-reactivity and indicating that canonical monomers and domain-swapped dimers may be of similar allergenicity. Together with the close structural homology to calmodulin and the large hydrophobic groove on the molecular surface this transistion suggests a regulatory rather than a  $Ca^{2+}$  buffering function for Bet v 4.

About 12 % of birch pollinotics also or exclusively show IgE antibodies against the 34.2 kDa minor birch pollen allergen Bet v 6 (formerly Bet v 5), which is highly IgE cross-reactive with Pyr c 5 from pear. The tertiary structure of these phenylcoumaran benzylic ether reductases is still completely unknown. The homonuclear NMR spectra of Pyr c 5 show excellent chemical shift dispersion, which is indicative of a mixed  $\alpha/\beta$  secondary structure and very encouraging for the determination of the high-resolution three-dimensional structure.

In the course of these projects two methodological improvements of the structure determination were developed and analyzed. Exclusion of negligible terms by introduction of an appropriate cutoff value saved a significant portion of the increase in computing time caused by using the Gaussian conformational database potential, without affecting the quality of the resulting structures. In addition, several inconsistencies in the standard parametrization of the covalent geometry of the force field were removed.

# 8. Abkürzungen

1D	eindimensional
2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon (Corticotropin)
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ANS	8-Anilino-1-naphtalensulfonat
ATP	Adenosintriphosphat
a. u.	arbitrary units
BMRB	BioMagResBank
BRI1	Brassinosteroid-Insensitive Gene 1
BURP	Band-Selective, Uniform Response, Pure-Phase
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CD	Zirkulardichroismus
CD4	Clusters of Differentiation 4
cDNA	Complementary Deoxyribonucleic Acid
CDR3	Complementary-Determining Region 3
СМС	Critical Micelle Concentration
COSY	Correlated Spectroscopy
CPU	Central Processing Unit
CSA	Chemical Shift Anisotropy
CSBP	Cytokinin-Specific Binding Protein
CSI	Chemical Shift Index
CTHSQC	Constant Time Heteronuclear Single Quantum Coherence
DIPSI	Decoupling in the Presence of Scalar Interactions
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DQF	Double Quantum Filtered
DSS	2,2-Dimethyl-2-silapentan-5-sulfonat
EAST	Enzyme Allergosorbent Test
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGTA	Ethylenglykol-bis-(2-aminoethyl)-tetraacetat

ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Fab	Fragment Antigen-Binding
FAD	Flavin-adenin-dinukleotid
Fc	Fragment Crystalline
FFT	Fast Fourier Transform
FID	Free Induction Decay
FSSP	Fold Classification Based on Structure-Structure Alignment of Proteins
FT	Fourier-Transformation
FWHM	Full Width at Half Maximum
GARP	Globally Optimized Alternating-Phase Rectangular Pulses
GTPase	Guanosintriphosphatase
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IEEE	Institute of Electrical and Electronics Engineers
IgM/G/D/A/E	Immunglobulin M/G/D/A/E
IL-4/5	Interleukin-4/5
INEPT	Insensitive Nuclei Enhancement by Polarization Transfer
IPAP	In-Phase/Anti-Phase
IUIS	International Union of Immunological Societies
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LRR	Leucine-Rich Repeat
LTP	Lipid Transfer Protein
MHCII	Major Histocompatibility Complex Class II
MLP	Major Latex Protein
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NIH	National Institutes of Health
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
OAS	Orales Allergiesyndrom
PCTP	Phosphatidylcholin-Transfer-Protein
PDB	Protein Data Bank

PG-SLED	Pulse Gradient Stimulated Echo Longitudinal Encode-Decode
PIP	Phosphatidylinositol-4-phosphat
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositol-4,5-biphosphat
PITP	Phosphatidylinositol-Transfer-Protein Isoform $\alpha$
ppm	parts per million
PR-10	Pathogenesis-Related Proteins Class 10
PSD	Phase Sensitive Detector
PSF	Protein Structure File
PtdCho	Distearoyl-3-sn-phosphatidylcholin
RF	Radiofrequenz
RMSD	Root Mean Square Deviation
RNase	Ribonuklease
RSDM	Reduced Spectral Density Mapping
SAM22	Starvation Associated Message 22
StAR	Steroid Acute Regulatory Protein
StarD1/2/3/4/5/6	START Domain-Containing Protein 1/2/3/4/5/6
START	StAR-Related Lipid Transfer
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
TPPI	Time Proportional Phase Incrementation
TSP	3-(Trimethylsilyl)-propionat
URL	Uniform Resource Locator
UV	Ultraviolett
WALTZ	Wideband, Alternating-Phase, Low-Power Technique for Zero-Residual-Splitting
WATERGATE	Water Suppression by Gradient-Tailored Excitation
wt	Wildtyp

## 9. Literatur

R. C. Aalberse: Structural biology of allergens, J. Allergy Clin. Immunol. 106, 228 - 238 (2000)

R. C. Aalberse, J. H. Akkerdaas, R. van Ree: Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens, Allergy 56, 478 - 490 (2001)

U. Abele und G. E. Schulz: High-resolution structures of adenylate kinase from yeast ligated with inhibitor  $Ap_5A$ , showing the pathway of phosphoryl transfer, Protein Sci. **4**, 1262 - 1271 (1995)

A. Abragam: The Principles of Nuclear Magnetism, Clarendon Press, Oxford (1989)

G. Adam, A. Porzel, J. Schmidt, B. Schneider und B. Voigt: New Developments in Brassinosteroid Research, Studies in Natural Products Chemistry **18**, 495 - 549 (1996)

G. Adam, J. Schmidt und B. Schneider: Brassinosteroids, Fortschr. Chem. Org. Naturst. 78, 1 - 46 (1999)

M. Akke, T. Drakenberg und W. J. Chazin: Three-Dimensional Solution Structure of  $Ca^{2+}$ -Loaded Porcine Calbindin D<sub>9k</sub> Determined by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Biochemistry **31**, 1011 - 1020 (1992)

S. F. Altschul, T. L. Madden, A. A. Schäffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller und D. J. Lipman: Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, Nucleic Acids Res. **25**, 3389 - 3402 (1997)

R. G. Atkinson, J. Perry, T. Matsui, G. S. Ross und E. A. Macrae: A stress-, pathogenesis-, and allergen-related cDNA in apple fruit is also ripening-related, New Zealand J. Crop Horticul. Sci. **24**, 103 - 107 (1996)

W. P. Aue, E. Bartholdi und R. R. Ernst: Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance, J. Chem. Phys. **64**, 2229 - 2246 (1976)

A. Awade, M. H. Metz-Boutigue, M. Le Ret, G. Genot, I. Amiri und G. Burkard: The complete amino acid sequence of the pathogenesis-related (PR2) protein induced in chemically stressed bean leaves, Biochim. Biophys. Acta **1077**, 241 - 244 (1991)

Y. S. Babu, J. S. Sack, T. J. Greenhough, C. E. Bugg, A. R. Means und W. J. Cook: Threedimensional structure of calmodulin, Nature **315**, 37 - 40 (1985)

S. Bagby, K. I. Tong und M. Ikura: Optimization of Protein Solubility and Stability for Protein Nuclear Magnetic Resonance, Meth. Enzymol. **339**, 20 - 41 (2001)

H. P. Bais, R. Vepachedu, C. B. Lawrence, F. R. Stermitz und J. M. Vivanco: Molecular and Biochemical Characterization of an Enzyme Responsible for the Formation of Hypericin in St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.), J. Biol. Chem. **278**, 32413 - 32422 (2003)

C. Baldellon, J.-R. Alattia, M.-P. Strub, T. Pauls, M. W. Berchtold, A. Cavé und A. Padilla: <sup>15</sup>N NMR Relaxation Studies of Calcium-Loaded Parvalbumin Shows Tight Dynamics Compared to Those of Other EF-Hand Proteins, Biochemistry **37**, 9964 - 9975 (1998)

B. K. Ballmer-Weber, B. Wüthrich, A. Wangorsch, K. Fötisch, F. Altmann und S. Vieths: Carrot allergy: Double-blinded, placebo-controlled food challenge and identification of allergens, J. Allergy Clin. Immunol. **108**, 301 - 307 (2001)

C. Ban, B. Ramakrishnan, K.-Y. Ling, C. Kung und B. Sundaralingam: Structure of the Recombinant *Paramecium tetraurelia* Calmodulin at 1.68 Å Resolution, Acta Cryst. **D50**, 50 - 63 (1994)

B. Bantignies, J. Séguin, I. Muzac, F. Dédaldéchamp, P. Gulick und R. Ibrahim: Direct evidence for ribonucleolytic activity of a PR-10-like protein from white lupin roots, Plant Mol. Biol. **42**, 871 - 881 (2000)

G. Barbato, M. Ikura, L. E. Kay, R. W. Pastor und A. Bax: Backbone Dynamics of Calmodulin Studied by <sup>15</sup>N Relaxation Using Inverse Detected Two-Dimensional NMR Spectroscopy: The Central Helix is Flexible, Biochemistry **31**, 5269 - 5278 (1992)

P. A. Bariola und P. J. Green: Plant Ribonuclease, in G. D'Alessio und J. F. Riordan (Hrsg.): Ribonucleases, Academic Press, San Diego, S. 163 - 190 (1997)

H. Barkhuijsen, R. de Beer, W. M. M. J. Bovée und D. van Ormondt: Retrieval of Frequencies, Amplitudes, Damping Factors, and Phases from Time-Domain Signals Using a Linear Least-Squares Procedure, J. Magn. Reson. **61**, 465 - 481 (1985)

D. H. P. Barrat und J. A. Clark: Proteins arising during the late stages of embryogenesis in *Pisum satvium* L., Planta **184**, 14 - 23 (1991)

G. J. Barton: ALSCRIPT: a tool to format multiple sequence alignments, Protein Eng. 6, 37 - 40 (1993)

E. Batanero, M. Villalba, A. Ledesma, X. S. Puente und R. Rodríguez: Ole e 3, an olive-tree allergen, belongs to a widespread family of pollen proteins, Eur. J. Biochem. **241**, 772 - 778 (1996)

A. Bax und S. Grzesiek: Methodological Advances in Protein NMR, Acc. Chem. Res. 26, 131 - 138 (1993)

A. Bax, G. Kontaxis und N. Tjandra: Dipolar Couplings in Macromolecular Structure Determination, Meth. Enzymol. **339**, 127 - 174 (2001)

E. D. Becker: High Resolution NMR, 3. Aufl., Academic Press, San Diego (2000)

M. Beißinger, H. Sticht, M. Sutter, A. Ejchart, W. Haehnel und P. Rösch: Solution structure of cytochrome  $c_6$  from the thermophilic cyanobacterium *Synechococcus elongatus*, EMBO J. **17**, 27 - 36 (1998)

H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola und R. J. Haak: Molecular dynamics with coupling to an external bath, J. Chem. Phys. **81**, 3684 - 3690 (1984)

I. Bertini, C. Luchinat und M. Piccioli: Paramagnetic Probes in Metalloproteins, Meth. Enzymol. **339**, 314 - 340 (2001)

C. Betzel: X-ray structure analysis of food allergens, J. Chromatogr. B756, 179 - 181 (2001)

Y.-M. Bi, P. Kenton, L. Mur, R. Darby und J. Draper: Hydrogen peroxide does not function downstream of salicylic acid in the induction of of PR protein expression, Plant J. **8**, 235 - 245 (1995)

R. R. Biekofsky, S. R. Martin, J. P. Browne, P. M. Bayley und J. Feeney: Ca<sup>2+</sup> Coordination to Backbone Carbonyl Oxygen Atoms in Calmodulin and Other EF-Hand Proteins: <sup>15</sup>N Chemical Shifts as Probes for Monitoring Individual-Site Ca<sup>2+</sup> Coordination, Biochemistry **37**, 7617 - 7629 (1998)

J. Biesiadka, M. M. Sikorski, G. Bujacz und M. Jakólski: Crystallization and preliminary Xray structure determination of *Lupinus luteus* PR10 protein, Acta Cryst. **D55**, 1925 - 1927 (1999)

J. Biesiadka, G. Bujacz, M. M. Sikorski und M. Jakólski: Crystal Structures of Two Homologous Pathogenesis-related Proteins from Yellow Lupine, J. Mol. Biol. **319**, 1223 - 1234 (2002)

M. Boehm: Arbeiten zur Strukturaufklärung immunologisch relevanter Proteine: Bet v 1 und HIV-1 Tat, Dissertation, Universität Bayreuth (1998)

M. Boehm und P. Rösch: Expression in *Escherichia coli*, Purification, and Spectroscopic Characterization of Two Mutant Bet v 1 Proteins, Biol. Chem. **378**, 687 - 695 (1997)

D. Bossemeyer: The glycine-rich sequence of protein kinases: a multifunctional element, Trends Biochem. Sci. **19**, 201 - 205 (1994)

C. Bracken, P. A. Carr, J. Cavanagh und A. G. Palmer III: Temperature Dependence of Intramolecular Dynamics of the Basic Leucine Zipper of GCN4: Implications for the Entropy of Association with DNA, J. Mol. Biol. **285**, 2133 - 2146 (1999)

C. Branden und J. Tooze: Introduction to Protein Structure, 2. Aufl., Garland, New York (1998)

W. Braun: Distance geometry and related methods for protein structure determination from NMR data, Quart. Rev. Biophys. **19**, 115 - 157 (1987)

C. Braun-Fahrländer: Do only European cattle protect from allergies?, Allergy **57**, 1094 - 1096 (2002)

L. Braunschweiler und R. R. Ernst: Coherence Transfer by Isotropic Mixing: Application to Proton Correlation Spectroscopy, J. Magn. Reson. **53**, 521 - 528 (1983)

H. Breiteneder und C. Ebner: Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens, J. Allergy Clin. Immunol. **106**, 27 - 36 (2000)

H. Breiteneder, K. Pettenburger, A. Bito, R. Valenta, D. Kraft, H. Rumpold, O. Scheiner und M. Breitenbach: The gene coding for the major birch pollen allergen *BetvI*, is highly homologous to a pea disease resistance response gene, EMBO J. **8**, 1935 - 1938 (1989)

H. Breiteneder, F. Ferreira, A. Reikerstorfer, M. Duchene, R. Valenta, K. Hoffmann-Sommergruber, C. Ebner, M. Breitenbach, D. Kraft und O. Scheiner: Complementary DNA cloning and expression in *Escherichia coli* of *Aln g* I, the major allergen in pollen of alder (*Alnus glutinosa*), J. Allergy Clin. Immunol. **90**, 909 - 917 (1992)

H. Breiteneder, F. Ferreira, K. Hoffmann-Sommergruber, C. Ebner, M. Breitenbach, H. Rumpold, D. Kraft und O. Scheiner: Four recombinant isoforms of *Cor a* I, the major allergen of hazel pollen, show different IgE-binding properties, Eur. J. Biochem. **212**, 355 - 362 (1993)

H. Breiteneder, K. Hoffmann-Sommergruber, G. O'Riordain, M. Susani, H. Ahorn, C. Ebner, D. Kraft und O. Scheiner: Molecular characterization of Api g 1, the major allergen of celery (*Apium graveolens*), and its immunological and structural relationships to a group of 17-kDa tree pollen allergens, Eur. J. Biochem. **233**, 484 - 489 (1995)

W. Brenig: Statistische Theorie der Wärme, 3. Aufl., Springer, Berlin (1992)

K. Broderick, C. Pittock, T. Arioli, E. H. Creaser, J. J. Weinman und B. G. Rolfe: Pathogenesis-Related Proteins in *Trifolium subterraneum*: A General Survey and Subsequent Characterisation of a Protein Inducible by Ethephon and Redlegged Earth Mite Attack, Aust. J. Plant Physiol. **24**, 819 - 829 (1997)

B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan und M. Karplus: CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations, J. Comput. Chem. **4**, 187 - 217 (1983)

A. T. Brünger: Free R value: a novel statistical quantity for assessing the accuracy of crystal structures, Nature **355**, 472 - 475 (1992a)

A. T. Brünger: X-PLOR Version 3.1. A System for X-Ray Crystallography and NMR, Yale University Press, New Haven (1992b)

A. T. Brünger und M. Karplus: Molecular Dynamics Simulations with Experimental Restraints, Acc. Chem. Res. 24, 54 - 61 (1991)

A. T. Brünger und M. Nilges: Computational challenges for macromolecular structure determination by X-ray crystallography and solution NMR-spectroscopy, Quart. Rev. Biophys. **26**, 49 - 125 (1993)

A. T. Brünger, C. L. Brooks III und M. Karplus: Stochastic Boundary Conditions for Molecular Dynamics Simulations of ST2 Water, Chem. Phys. Lett. **105**, 495 - 500 (1984)

A. T. Brünger, G. M. Clore, A. M. Gronenborn, R. Saffrich und M. Nilges: Assessing the Quality of Solution Nuclear Magnetic Resonance Structures by Complete Cross-Validation, Science **261**, 328 - 331 (1993)

A. Bufe, G. Schramm, M. B. Keown, M. Schlaak und W.-M. Becker: Major allergen *Phl* p Vb in timothy grass is a novel pollen RNase, FEBS Lett. **363**, 6 - 12 (1995)

A. Bufe, C. Betzel, G. Schramm, A. Petersen, W.-M. Becker, M. Schlaak, M. Perbandt, Z. Dauter und W. Weber: Crystallization and Preliminary Diffraction Data of a Major Pollen Allergen, J. Biol. Chem. **271**, 27193 - 27196 (1996a)

A. Bufe, M. D. Spangfort, H. Kahlert, M. Schlaak und W.-M. Becker: The major birch pollen allergen, Bet v 1, shows ribonuclease activity, Planta **199**, 413 - 415 (1996b)

A. Bugajska-Schretter, L. Elfman, T. Fuchs, S. Kapiotis, H. Rumpold, R. Valenta und S. Spitzauer: Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and  $Ca^{2+}$  depletion, J. Allergy Clin. Immunol. **101**, 67 - 74 (1998)

A. Bundi und K. Wüthrich: <sup>1</sup>H-NMR Parameters of the Common Amino Acid Residues Measured in Aqueous Solutions of the Linear Tetrapeptides H-Gly-Gly-X-L-Ala-OH, Biopolymers **18**, 285 - 297 (1979)

P. Cadot, J. F. Díaz, P. Proost, J. Van Damme, Y. Engelborghs, E. A. M. Stevens und J. L. Ceuppens: Purification and characterization of an 18-kd allergen of birch (*Betula verrucosa*) pollen: Identification as a cyclophilin, J. Allergy Clin. Immunol. **105**, 286 - 291 (2000)

A. P. Calvo, O. Lorenzo, C. Nicolás und D. Rodríguez: Expression and Characteristics of a cDNA Encoding a Pathogenesis-Related Protein (Accession No. AJ130889) from *Fagus sylvatica* Seeds (PGR 99-090), Plant Physiol. **120**, 933 (1999)

C. R. Cantor und P. R. Schimmel: Biophysical Chemistry, Freeman, New York (1980)

J. Cavanagh und M. Rance: Suppression of Cross-Relaxation Effects in TOCSY Spectra via a Modified DIPSI-2 Mixing Sequence, J. Magn. Reson. **96**, 670 - 678 (1992)

J. Cavanagh, W. J. Fairbrother, A. G. Palmer III und N. J. Skelton: Protein NMR Spectroscopy, Academic Press, San Diego (1996)

R. Chattopadhyaya, W. E. Meador, A. R. Means und F. A. Quiocho: Calmodulin Structure Refined at 1.7 Å Resolution, J. Mol. Biol. **228**, 1177 - 1192 (1992)

W. J. Chazin, J. Kördel, T. Drakenberg, E. Thulin, P. Brodin, T. Grundström und S. Forsén: Proline isomerism leads to multiple folded conformations of calbindin  $D_{9k}$ : Direct evidence from two-dimensional <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **86**, 2195 - 2198 (1989)

C. C. Chiang und L. A. Hadwiger: Cloning and Characterization of a Disease Resistance Response Gene in Pea Inducible by *Fusarium solani*, Mol. Plant-Microbe Interact. **3**, 78 - 85 (1990)

C. H. Cho, J. Urquidi, S. Singh und G. W. Robinson: Thermal Offset Viscosities of Liquid H<sub>2</sub>O, D<sub>2</sub>O, and T<sub>2</sub>O, J. Phys Chem. **B103**, 1991 - 1994 (1999)

J. J. Chou, S. Li und A. Bax: Study of conformational rearrangement and refinement of structural homology models by the use of heteronuclear dipolar couplings, J. Biomol. NMR **18**, 217 - 227 (2000)

J. J. Chou, S. Li, C. B. Klee und A. Bax: Solution structure of  $Ca^{2+}$ -calmodulin reveals flexible hand-like properties of its domains, Nature Struct. Biol. **8**, 990 - 997 (2001)

J. A. Clapperton, S. R. Martin, S. J. Smerdon, S. J. Gamblin und P. M. Bayley: Structure of the Complex of Calmodulin with the Target Sequence of Calmodulin-Dependent Protein Kinase I: Studies of the Kinase Activation Mechanism, Biochemistry **41**, 14669 - 14679 (2002)

G. M. Clore und A. M. Gronenborn: Applications of three- and four-dimensional heteronuclear NMR spectroscopy to protein structure determination, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 23, 43 - 92 (1991)

G. M. Clore und A. M. Gronenborn: New methods of structure refinement for macromolecular structure determination by NMR, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95**, 5891 - 5898 (1998)

G. M. Clore, M. Nilges, D. K. Sukumaran, A. T. Brünger, M. Karplus und A. M. Gronenborn: The three-dimensional structure of  $\alpha$ 1-purothionin in solution: combined use of nuclear magnetic resonance, distance geometry and restrained molecular dynamics, EMBO J. **5**, 2729 - 2735 (1986)

G. M. Clore, A. M. Gronenborn, M. Nilges und C. A. Ryan: Three-Dimensional Structure of Potato Carboxypeptidase Inhibitor in Solution. A Study Using Nuclear Magnetic Resonance, Distance Geometry, and Restrained Molecular Dynamics, Biochemistry **26**, 8012 - 8023 (1987)

G. M. Clore, M. A. Robien und A. M. Gronenborn: Exploring the Limits of Precision and Accuracy of Protein Structures Determined by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, J. Mol. Biol. **231**, 82 - 102 (1993)

G. M. Clore, A. M. Gronenborn und N. Tjandra: Direct Structure Refinement against Residual Dipolar Couplings in the Presence of Rhombicity of Unknown Magnitude, J. Magn. Reson. **131**, 159 - 162 (1998a)

G. M. Clore, A. M. Gronenborn und A. Bax: A Robust Method for Determining the Magnitude of the Fully Asymmetric Alignment Tensor of Oriented Macromolecules in the Absence of Structural Information, J. Magn. Reson. **133**, 216 - 221 (1998b)

S. D. Clouse: Brassinosteroid Signaling: Novel Downstream Components Emerge, Curr. Biol. **12**, R485 - R487 (2002)

S. D. Clouse und K. E. Feldmann: Molecular Genetics of Brassinosteroid Action, in A. Sakurai, T. Yokota und S. D. Clouse (Hrsg.): Brassinosteroids, Springer, Tokio, S. 163 - 190 (1999)

M. L. Connolly: Measurement of protein surface shape by solid angles, J. Mol. Graphics 4, 3 - 6 (1986)

C. P. Constabel und N. Brisson: The defense-related *STH-2* gene product of potato shows race-specific accumulation after inoculation with low concentrations of *Phytophthora infestans* zoospores, Planta **188**, 289 - 295 (1992)

C. P. Constabel und N. Brisson: Stigma- and Vascular-Specific Expression of the *PR-10a* Gene of Potato: A Novel Pattern of Expression of a Pathogenesis-Related Gene, Mol. Plant-Microbe Interact. **8**, 104 - 113 (1995)

F. Cordier und S. Grzesiek: Direct Observation of Hydrogen Bonds in Proteins by Interresidue <sup>3h</sup>J<sub>NC'</sub> Scalar Couplings, J. Am. Chem. Soc. **121**, 1601 - 1602 (1999)

G. Cornilescu, J. L. Marquardt, M. Ottiger und A. Bax: Validation of Protein Structure from Anisotropic Carbonyl Chemical Shifts in a Dilute Liquid Crystalline Phase, J. Am. Chem. Soc. **120**, 6836 - 6837 (1998)

G. Cornilescu, J.-S. Hu und A. Bax: Identification of the Hydrogen Bonding Network in a Protein by Scalar Couplings, J. Am. Chem. Soc. **121**, 2949 - 2950 (1999)

G. M. Crippen: Why Energy Embedding Works, J. Phys. Chem. 91, 6341 - 6343 (1987)

G. M. Crippen und T. F. Havel: Stable Calculation of Coordinates from Distance Information, Acta Cryst. **A34**, 282 - 284 (1978)

G. M. Crippen und T. F. Havel: Distance geometry and molecular conformation, Research Studies Press, New York (1988)

D. N. Crowell und R. M. Amasino: Induction of Specific mRNAs in Cultured Soybean Cells during Cytokinin or Auxin Starvation, Plant Physiol. **95**, 711 - 715 (1991)

D. N. Crowell, M. E. John, D. Russell und R. M. Amasino: Characterization of a stressinduced, developmentally regulated gene family from soybean, Plant Mol. Biol. **18**, 459 - 466 (1992)

F. Cruz-Garcia, C. N. Hancock und B. McClure: S-RNase complexes and pollen rejection, J. Exp. Bot. **54**, 123 - 130 (2003)

C. M. Cuchillo, M. Vilanova und M. V. Nogués: Pancreatic Ribonucleases, in G. D'Alessio und J. F. Riordan (Hrsg.): Ribonucleases, Academic Press, San Diego, S. 271 - 304 (1997)

A. C. R. da Silva und F. C. Reinach: Calcium binding induces conformational changes in muscle regulatory proteins, Trends Biochem. Sci. **16**, 53 - 57 (1991)

K. T. Dayie und G. Wagner: Relaxation-Rate Measurements for <sup>15</sup>N-<sup>1</sup>H Groups with Pulsed-Field Gradients and Preservation of Coherence Pathways, J. Magn. Reson. **A111**, 121 - 126 (1994) T. Diercks, M. Coles und H. Kessler: An efficient strategy for assignment of cross-peaks in 3D heteronuclear NOESY experiments, J. Biomol. NMR **15**, 177 - 180 (1999)

P. Dosset, J.-C. Hus, M. Blackledge und D. Marion: Efficient analysis of macromolecular rotational diffusion from heteronuclear relaxation data, J. Biomol. NMR **16**, 23 - 28 (2000)

T. Drakenberg, T. Hofmann und W. J. Chazin: <sup>1</sup>H NMR Studies of Porcine Calbindin  $D_{9k}$  in Solution: Sequential Resonance Assignment, Secondary Structure, and Global Fold, Biochemistry **28**, 5946 - 5954 (1989)

P. Düx, B. Whitehead, R. Boelens, R. Kaptein und G. W. Vuister: Measurement of <sup>15</sup>N-<sup>1</sup>H coupling constants in uniformly <sup>15</sup>N-labeled proteins: Application to the photoactive yellow protein, J. Biomol. NMR **10**, 301 - 306 (1997)

C. Ebner und H. Breiteneder: Eine Übersicht über pflanzliche Nahrungsmittelallergene, Allergologie **25**, 527 - 533 (2002)

C. Ebner, K. Hoffmann-Sommergruber und H. Breiteneder: Plant food allergens homologous to pathogenesis-related proteins, Allergy **56**, Suppl. 67, 43 - 44 (2001)

H. Eckey-Kaltenbach, D. Ernst, W. Heller und H. Sandermann Jr.: Biochemical Plant Responses to Ozone, Plant Physiol. **104**, 67 - 74 (1994)

A. S. Edison, F. Abildgaard, W. M. Westler, E. S. Mooberry und J. L. Markley: Practical Introduction to Theory and Implementation of Multinuclear, Multidimensional Nuclear Magnetic Resonance Experiments, Meth. Enzymol. **239**, 3 - 79 (1994)

U. Eggenberger, P. Schmidt, M. Sattler, S. J. Glaser und C. Griesinger: Frequency-Selective Decoupling with Recursively Expanded Soft Pulses in Multinuclear NMR, J. Magn. Reson. **100**, 604 - 610 (1992)

P. A. Eigenmann: Food allergy: a long way to safe processed foods, Allergy **56**, 1112 - 1113 (2001)

A. Eisenmann: Strukturelle Charakterisierung von Bet v 4, Diplomarbeit, Universität Bayreuth (2001)

B. Elshorst, M. Hennig, H. Försterling, A. Diener, M. Maurer, P. Schulte, H. Schwalbe, C. Griesinger, J. Krebs, H. Schmid, T. Vorherr und A. Carafoli: NMR Solution Structure of a Complex of Calmodulin with a Binding Peptide of the Ca<sup>2+</sup> Pump, Biochemistry **38**, 12320 - 12332 (1999)

J. W. Emsley und J. C. Lindon: NMR Spectroscopy using liquid crystal solvents, Pergamon Press, Oxford (1975)

L. Emsley und G. Bodenhausen: Gaussian Pulse Cascades: New Analytical Functions for Rectangular Selective Inversion and In-Phase Excitation in NMR, Chem. Phys. Lett. **165**, 469 - 476 (1990)

E. Engel, K. Richter, G. Obermeyer, P. Briza, A. J. Kungl, B. Simon, M. Auer, C. Ebner, H.-J. Rheinberger, M. Breitenbach und F. Ferreira: Immunological and Biological Properties of Bet v 4, a Novel Birch Pollen Allergen with Two EF-hand Calcium-binding Domains, J. Biol. Chem. **272**, 28630 - 28637 (1997)

R. A. Engh und R. Huber: Accurate Bond and Angle Parameters for X-ray Protein Structure Refinement, Acta Cryst. A47, 392 - 400 (1991)

G. Englert und A. Saupe: Hochaufgelöste Protonenresonanzspektren mit direkter magnetischer Dipol-Dipol-Wechselwirkung, Teil II, Z. Naturforschg. **19a**, 172 - 177 (1964)

R. R. Ernst, G. Bodenhausen und A. Wokaun: Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions, Clarendon Press, Oxford (1988)

C. Faber: Zwei- und dreidimensionale NMR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung des Birkenpollenallergens Bet v 1, Diplomarbeit, Universität Bayreuth (1996)

C. Faber, A. Lindemann, H. Sticht, A. Ejchart, A. Kungl, M. Susani, R. W. Frank, D. Kraft, M. Breitenbach und P. Rösch: Secondary Structure and Tertiary Fold of the Birch Pollen Allergen Bet v 1 in Solution, J. Biol. Chem. **271**, 19243 - 19250 (1996)

A. A. Fedorov, T. Ball, N. M. Mahoney, R. Valenta und S. C. Almo: The molecular basis for allergen cross-reactivity: crystal structure and IgE-epitope mapping of birch pollen profilin, Structure **5**, 33 - 45 (1997)

F. Ferreira, C. Ebner, B. Kramer, G. Casari, P. Briza, A. J. Kungl, R. Grimm, B. Jahn-Schmid, H. Breiteneder, D. Kraft, M. Breitenbach, H.-J. Rheinberger und O. Scheiner: Modulation of IgE reactivity of allergens by site-directed mutagenesis: potential use of hypoallergenic variants for immunotherapy, FASEB J. **12**, 231 - 242 (1998)

F. Ferreira, D. Hebenstreit, B. Kramer, M. Himly, H. Breiteneder, O. Scheiner, P. Briza, C. Ebner und M. Breitenbach: Amino Acid Positions Involved in the Formation of IgE-binding Epitopes of Api g 1 and Mal d 1 Allergens, J. Allergy Clin. Immunol. **105**, S137 (2000)

A. Fersht: Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding, Freeman, New York (1998)

B. E. Finn, J. Evenäs, T. Drakenberg, J. P. Waltho, E. Thulin und S. Forsén: Calcium-induced structural changes and domain autonomy in calmodulin, Nature Struct. Biol. 2, 777 - 783 (1995)

M. W. F. Fischer, J. A. Losonczi, J. L. Weaver und J. H. Prestegard: Domain Orientation and Dynamics in Multidomain Proteins from Residual Dipolar Couplings, Biochemistry **38**, 9013 - 9022 (1999)

M. Focke, W. Hemmer, B. Hayek, M. Götz und R. Jarisch: Identification of Allergens in Oilseed Rape (*Brassica napus*) Pollen, Int. Arch. Allergy Immunol. **117**, 105 - 112 (1998)

K. Fötisch und S. Vieths: N- and O-linked oligosaccharides of allergenic glycoproteins, Glycoconjugate J. **18**, 373 - 390 (2001)

T. Frenkiel, C. Bauer, M. D. Carr, B. Birdsall und J. Feeney: HMQC-NOESY-HMQC, a Three-Dimensional NMR Experiment Which Allows Detection of Nuclear Overhauser Effects beween Protons with Overlapping Signals, J. Magn. Reson. **90**, 420 - 425 (1990)

M. S. Friedrichs: A model-free algorithm for the removal of baseline artifacts, J. Biomol. NMR 5, 147 - 153 (1995)

B. Fristensky, D. Horovitz und L. A. Hadwiger: cDNA sequences for pea disease resistance response genes, Plant Mol. Biol. **11**, 713 - 715 (1988)

H. C. Fuchs, M. Willerroider, B. Ballmer-Weber, M. Susani, J. Thalhamer, B. Wüthrich, H. Breiteneder und K. Hoffmann-Sommergruber: Molecular and immunological characterization of two new food allergens, Lyc e 1 und Cap a 2, profilin from bell pepper (*Capsicum annuum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*), Allergy **57**, Suppl. 73, 80 (2002)

Y. Fujimoto, R. Nagata, H. Fukasawa, K. Yano, M. Azuma, A. Iida, S. Sugimoto, K. Shudo und Y. Hashimoto: Purification and cDNA cloning of cytokinin-specific binding protein from mung bean (*Vigna radiata*), Eur. J. Biochem. **258**, 794 - 802 (1998)

S. Fujioka: Natural Occurrence of Brassinosteroids in the Plant Kingdom, in A. Sakurai, T. Yokota und S. D. Clouse (Hrsg.): Brassinosteroids, Springer, Tokio, S. 21 - 45 (1999)

M. Gajhede, P. Osmark, F. M. Poulsen, H. Ipsen, J. N. Larsen, R. J. J. van Neerven, C. Schou, H. Løwenstein und M. D. Spangfort: X-ray and NMR structure of Bet v 1, the origin of birch pollen allergy, Nature Struct. Biol. **3**, 1040 - 1045 (1996)

E. Ganglberger, C. Radauer, S. Wagner, G. Ó Ríordáin, D. H. Beezhold, R. Brehler, B. Niggemann, O. Scheiner, E. Jensen-Jarolim und H. Breiteneder: Hev b 8, the *Hevea brasiliensis* Latex Profilin, Is a Cross-Reactive Allergen of Latex, Plant Foods and Pollen, Int. Arch. Allergy Immunol. **125**, 216 - 227 (2001)

S. C. Garman, B. A. Wurzburg, S. S. Tarchevskaya, J.-P. Kinet und T. S. Jardetzky: Structure of the Fc fragment of human IgE bound to its high-affinity receptor FcεRIα, Nature **406**, 259 - 266 (2000)

H. Geen und R. Freeman: Band-Selective Radiofrequency Pulses, J. Magn. Reson. 93, 93 - 141 (1991)

D. Ghosh, Z. Wawrzak, V. Z. Pletnev, N. Li, R. Kaiser, W. Pangborn, H. Jörnvall, M. Erman und W. L. Duax: Structure of uncomplexed and linoleate-bound *Candida cylindracea* cholesterol esterase, Structure **3**, 279 - 288 (1995)

J. A. Glasel und M. P. Deutscher (Hrsg.): Introduction to Biophysical Methods for Protein and Nucleic Acid Research, Academic Press, San Diego (1995)

P. K. Glasoe und F. A. Long: Use of Glass Electrodes to Measure Acidities in Deuterium Oxide, J. Phys. Chem. **64**, 188 - 190 (1960)

P. J. Green: The Ribonucleases of Higher Plants, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. **45**, 421 - 445 (1994)

C. Griesinger, H. Schwalbe, J. Schleucher und M. Sattler: Proton-Detected Heteronuclear and Multidimensional NMR, in W. R. Croasmun und R. M. K. Carlson (Hrsg.): Two-Dimensional NMR Spectroscopy, VCH, New York, S. 457 - 580 (1994)

A. M. Gronenborn, D. R. Filpula, N. Z. Essig, A. Achari, M. Whitlow, P. T. Wingfield und G. M. Clore: A Novel, Highly Stable Fold of the Immunoglobulin Binding Domain of Streptococcal Protein G, Science **253**, 657 - 661 (1991)

M. Grote: In situ Localization of Pollen Allergens by Immunogold Electron Microscopy: Allergens at Unexpected Sites, Int. Arch. Allergy Immunol. **118**, 1 - 6 (1999)

M. Grote, S. Vrtala und R. Valenta: Monitoring of Two Allergens, Bet v I and Profilin, in Dry and Rehydrated Birch Pollen by Immunogold Electron Microscopy and Immunoblotting, J. Histochem. Cytochem. **41**, 745 - 750 (1993)

M. Grote, P. Wiedemann, S. Lebecque und R. Valenta: Human monoclonal IgG antibodies derived from a patient allergic to birch pollen as tools to study the in situ localization of the major birch pollen allergen, Bet v 1, by immunogold electron microscopy, J. Allergy Clin. Immunol. **101**, 60 - 66 (1998)

M. Grote, B. Hayek, R. Reichelt, D. Kraft und R. Valenta: Immunogold Electron Microscopic Localization of the Cross-Reactive Two-EF-Hand Calcium-Binding Birch Pollen Allergen Bet v 4 in Dry and Rehydrated Birch Pollen, Int. Arch. Allergy Immunol. **120**, 287 - 294 (1999)

M. Grote, R. Valenta und R. Reichelt: Abortive pollen germination: A mechanism of allergen release in birch, alder, and hazel revealed by immunogold electron microscopy, J. Allergy Clin. Immunol. **111**, 1017 - 1023 (2003)

M. D. Grove, G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. Mandava, J. F. Worley, J. D. Warthen Jr., G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anderson und J. C. Cook Jr.: Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen, Nature **281**, 216 - 217 (1979)

S. Grzesiek und A. Bax: Improved 3D Triple-Resonance NMR Techniques Applied to a 31 kDa Protein, J. Magn. Reson. **96**, 432 - 440 (1992a)

S. Grzesiek und A. Bax: Correlating Backbone Amide and Side Chain Resonances in Larger Proteins by Multiple Relayed Triple Resonance NMR, J. Am. Chem. Soc. **114**, 6291 - 6293 (1992b)

S. Grzesiek und A. Bax: Amino acid type determination in the sequential assignment procedure of uniformly  ${}^{13}C/{}^{15}N$ -enriched proteins, J. Biomol. NMR **3**, 185 - 204 (1993a)

S. Grzesiek und A. Bax: Correlation of Backbone Amide and Aliphatic Side-Chain Resonances in <sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N-Enriched Proteins by Isotropic Mixing of <sup>13</sup>C Magnetization, J. Magn. Reson. **B101**, 114 - 119 (1993b)

S. Grzesiek und A. Bax: The Importance of Not Saturating  $H_2O$  in Protein NMR. Application to Sensitivity Enhancement and NOE Measurements, J. Am. Chem. Soc., **115**, 12593 - 12594 (1993c)

S. Grzesiek, F. Cordier und A. J. Dingley: Scalar Couplings Across Hydrogen Bonds, Meth. Enzymol. **338**, 111 - 133 (2001)

N. Guex und M. C. Peitsch: SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling, Electrophoresis **18**, 2714 - 2723 (1997)

H. Günther: NMR-Spektroskopie, 3. Aufl., Thieme, Stuttgart (1992)

M. Håkansson, A. Svensson, J. Fast und S. Linse: An extended hydrophobic core induces EFhand swapping, Protein Sci. **10**, 927 - 933 (2001)

M. R. Hansen, L. Mueller und A. Pardi: Tunable alignment of macromolecules by filamentous phage yields dipolar coupling interactions, Nature Struct. Biol. 5, 1065 - 1074 (1998)

B. Hayek, L. Vangelista, A. Pastore, W. R. Sperr, P. Valent, S. Vrtala, V. Niederberger, A. Twardosz, D. Kraft und R. Valenta: Molecular and Immunologic Characterization of a Highly Cross-Reactive Two EF-Hand Calcium-Binding Alder Pollen Allergen, Aln g 4: Structural Basis for Calcium-Modulated IgE Recognition, J. Immunol. **161**, 7031 - 7039 (1998)

Z. He, Z.-Y. Wang, J. Li, Q. Zhu, C. Lamb, P. Ronald und J. Chory: Perception of Brassinosteroids by the Extracellular Domain of the Receptor Kinase BRI1, Science **288**, 2360 - 2363 (2000)

O. Herzberg und M. N. G. James: Structure of the calcium regulatory muscle protein troponin-C at 2.8 Å resolution, Nature **313**, 653 - 659 (1985)

O. Herzberg und M. N. G. James: Refined Crystal Structure of Troponin C from Turkey Skeletal Muscle at 2.0 Å Resolution, J. Mol. Biol. **203**, 761 - 779 (1988)

K. P. Hoeflich und M. Ikura: Calmodulin in Action: Diversity in Target Recognition and Activation Mechanisms, Cell **108**, 739 - 742 (2002)

K. Hoffmann-Sommergruber: Plant Allergens and Pathogenesis-Related Proteins, Int. Arch. Allergy Immunol. **122**, 155 - 166 (2000)

K. Hoffmann-Sommergruber, M. Vanek-Krebitz, C. Radauer, J. Wen, F. Ferreira, O. Scheiner und H. Breiteneder: Genomic characterization of members of the Bet v 1 family: genes coding for allergens and pathogenesis-related proteins share intron positions, Gene **197**, 91 - 100 (1997)

K. Hoffmann-Sommergruber, G. O'Riordain, H. Ahorn, C. Ebner, M. Laimer da Camara Machado, H. Pühringer, O. Scheiner und H. Breiteneder: Molecular characterization of Dau c 1, the Bet v 1 homologous protein from carrot and its cross-reactivity with Bet v 1 and Api g 1, Clin. Exp. Allergy **29**, 840 - 847 (1999)

K. Hoffmann-Sommergruber, R. Ferris, M. Pec, C. Radauer, G. O'Riordain, M. Laimer da Camara Machado, O. Scheiner und H. Breiteneder: Characterization of Api g 1.0201, a New Member of the Api g 1 Family of Celery Allergens, Int. Arch. Allergy Immunol. **122**, 115 - 123 (2000)

J. Hofsteenge: Ribonuclease Inhibitor, in G. D'Alessio und J. F. Riordan (Hrsg.): Ribonucleases, Academic Press, San Diego, S. 621 - 658 (1997)

T. A. Holak, M. Nilges und H. Oschkinat: Improved strategies for the determination of protein structures from NMR data: the solution structure of acyl carrier protein, FEBS Lett. **242**, 649 - 654 (1989)

A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg: Lehrbuch der Anorganischen Chemie, 101. Aufl., de Gruyter, Berlin (1995)

J. Holm, A. Henriksen, J. N. Larsen, H. Ipsen, M. Gajhede und M. D. Spangfort: Structural based engineering of a Bet v 1 mutant with reduced IgE-binding properties - a step toward modified recombinant allergenvaccines for immunotherapy, Allergy **55**, Suppl. 63, 21 (2000)

J. Holm, G. Bærentzen, M. Gajhede, H. Ipsen, J. N. Larsen, H. Løwenstein, M. Wissenbach und M. D. Spangfort: Molecular basis of allergic cross-reactivity between group 1 major allergens from birch and apple, J. Chromatogr. **B756**, 307 - 313 (2001)

J. Holm, M. Ferreras, L. Hansen, J. Haugel-Nielsen, H. Ipsen, K. Lund, M. D. Spangfort und J. N. Larsen: Epitope grafting: the building of a conformational Bet v 1 epitope on Mal d 1, Allergy **58**, Suppl. 74, 385 (2003)

L. Holm und C. Sander: Protein Structure Comparison by Alignment of Distance Matrices, J. Mol. Biol. **233**, 123 - 138 (1993)

L. Holm und C. Sander: Mapping the Protein Universe, Science 273, 595 - 602 (1996)

B. Honig und A. Nicholls: Classical Electrostatics in Biology and Chemistry, Science **268**, 1144 - 1149 (1995)

J.-C. Huang, F.-C. Chang und C.-S. Wang: Characterization of a lily tapetal transcript that shares sequence similarity with a class of intracellular pathogenesis-related (IPR) proteins, Plant Mol. Biol. **34**, 681 - 686 (1997)

S. Huang, H.-S. Lee, B. Karunanandaa und T.-h. Kao: Ribonuclease Activity of *Petunia inflata* S Proteins is Essential for Rejection of Self-Pollen, Plant Cell **6**, 1021 - 1028 (1994)

X. Huang und R. Powers: Validity of Using the Radius of Gyration as a Restraint in NMR Protein Structure Determination, J. Am. Chem. Soc. **123**, 3834 - 3835 (2001)

W. E. Hull: Experimental Aspects of Two-Dimensional NMR, in W. R. Croasmun und R. M. K. Carlson (Hrsg.): Two-Dimensional NMR Spectroscopy, VCH, New York, S. 67 - 456 (1994)

W. E. Hull und B. D. Sykes: Dipolar nuclear spin relaxation of <sup>19</sup>F in multispin systems. Application to <sup>19</sup>F labeled proteins, J. Chem. Phys. **63**, 867 - 880 (1975)

T.-L. Hwang und A. J. Shaka: Water Suppression That Works. Excitation Sculpting Using Arbitrary Waveforms and Pulsed Field Gradients, J. Magn. Reson. **A112**, 275 - 279 (1995)

K. Ida, S. Norioka, M. Yamamoto, T. Kumasaka, E. Yamashita, E. Newbigin, A. E. Clarke, F. Sakiyama und M. Sato: The 1.55 Å Resolution Structure of *Nicotiana alata*  $S_{F11}$ -RNase Associated with Gametophytic Self-incompatibility, J. Mol. Biol. **314**, 103 - 112 (2001)

M. Ikura: Calcium binding and conformational response in EF-hand proteins, Trends Biochem. Sci. 21, 14 - 17 (1996)

M. Ikura, L. E. Kay, R. Tschudin und A. Bax: Three-Dimensional NOESY-HMQC Spectroscopy of a <sup>13</sup>C-Labeled Protein, J. Magn. Reson. **86**, 204 - 209 (1990a)

M. Ikura, L. E. Kay und A. Bax: A Novel Approach for Sequential Assignment of <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, and <sup>15</sup>N Spectra of Larger Proteins: Heteronuclear Triple-Resonance Three-Dimensional NMR Spectroscopy. Application to Calmodulin, Biochemistry **29**, 4659 - 4667 (1990b)

M. Ikura, A. Bax, G. M. Clore und A. M. Gronenborn: Detection of Nuclear Overhauser Effects between Degenerate Amide Proton Resonances by Heteronuclear Three-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, J. Am. Chem. Soc. **112**, 9020 - 9022 (1990c)

M. Ikura, S. Spera, G. Barbato, L. E. Kay, M. Krinks und A. Bax: Secondary Structure and Side-Chain <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Resonance Assignments of Calmodulin in Solution by Heteronuclear Multidimensional NMR Spectroscopy, Biochemistry **30**, 9216 - 9228 (1991a)

M. Ikura, L. E. Kay und A. Bax: Improved three-dimensional <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H correlation spectroscopy of a <sup>13</sup>C-labeled protein using constant-time evolution, J. Biomol. NMR **1**, 299 - 304 (1991b)

M. Ikura, G. M. Clore, A. M. Gronenborn, G. Zhu, C. B. Klee und A. Bax: Solution Structure of a Calmodulin-Target Peptide Complex by Multidimensional NMR, Science **256**, 632 - 638 (1992)

H. Ipsen und O. C. Hansen: The NH<sub>2</sub>-terminal amino acid sequence of the immunochemically partial identical major allergens of alder (*Alnus glutinosa*) *Aln g* I, birch (*Betula verrucosa*) *Bet v* I, hornbeam (*Carpinus betulus*) *Car b* I and oak (*Quercus alba*) *Que a* I pollens, Mol. Immunol. **28**, 1279 - 1288 (1991)

H. Ishida, K.-i. Nakashima, Y. Kumaki, M. Nakata, K. Hikichi und M. Yazawa: The Solution Structure of Apocalmodulin from *Saccharomyces cerevisiae* Implies a Mechanism for Its Unique Ca<sup>2+</sup> Binding Property, Biochemistry **41**, 15536 - 15542 (2002)

E. A. Iturriaga, M. J. Leech, D. H. P. Barratt und T. L. Wang: Two ABA-responsive proteins from pea (*Pisum sativum* L.) are closely related to intracellular pathogenesis-related proteins, Plant Mol. Biol. **24**, 235 - 240 (1994)

L. M. Iyer, E. V. Koonin und L. Aravind: Adaptations of the Helix-Grip Fold for Ligand Binding and Catalysis in the START Domain Superfamily, Proteins **43**, 134 - 144 (2001)

J. D. Jackson: Classical Electrodynamics, 2. Aufl., Wiley, New York (1975)
C. A. Janeway Jr., P. Travers, M. Walport und J. D. Capra: Immunobiology, 4. Aufl., Churchill Livingstone, Edinburgh (1999)

J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann und R. R. Ernst: Investigation of exchange processes by two-dimensional NMR spectroscopy, J. Chem. Phys. **71**, 4546 - 4553 (1979)

F. Jensen: Introduction to Computational Chemistry, Wiley, Chichester (1999)

B. A. Johnson und R. A. Blevins: NMRView: A computer program for the visualization and analysis of NMR data, J. Biomol. NMR **4**, 603 - 614 (1994)

P. E. Johnson, A. L. Creagh, E. Brun, K. Joe, P. Tomme, C. A. Haynes und L. P. McIntosh: Calcium Binding by the N-Terminal Cellulose-Binding Domain from *Cellulomonas fimi*  $\beta$ -1,4-Glucanase CenC, Biochemistry **37**, 12772 - 12781 (1998)

J. A. Jones, D. K. Wilkins, L. J. Smith und C. M. Dobson: Characterisation of protein unfolding by NMR diffusion measurements, J. Biomol. NMR **10**, 199 - 203 (1997)

W. Kabsch: A solution for the best rotation to relate two sets of vectors, Acta Cryst. A32, 922 - 923 (1976)

F. Karamloo, N. Schmitz, S. Scheurer, K. Foetisch, A. Hoffmann, D. Haustein und S. Vieths: Molecular cloning and characterization of a birch pollen minor allergen, Bet v 5, belonging to a family of isoflavone reductase-related proteins, J. Allergy Clin. Immunol. **104**, 991 - 999 (1999)

F. Karamloo, S. Scheurer, A. Wangorsch, S. May, D. Haustein und S. Vieths: Pyr c 1, the major allergen from pear (*Pyrus communis*), is a new member of the Bet v 1 allergen family, J. Chromatogr. **B756**, 281 - 293 (2001a)

F. Karamloo, A. Wangorsch, H. Kasahara, L. B. Davin, D. Haustein, N. G. Lewis und S. Vieths: Phenylcoumaran benzylic ether and isoflavonoid reductases are a new class of cross-reactive allergens in birch pollen, fruits and vegetables, Eur. J. Biochem. **268**, 5310 - 5320 (2001b)

M. Karplus: Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments, J. Chem. Phys. **30**, 11 - 15 (1959)

S. Kawamoto, T. Fujimura, M. Nishida, T. Tanaka, T. Aki, M. Masubuchi, T. Hayashi, O. Suzuki, S. Shigeta und K. Ono: Molecular cloning and characterization of a new Japanese cedar pollen allergen homologous to plant isoflavone reductase family, Clin. Exp. Allergy **32**, 1064 - 1070 (2002)

A. B. Kay: Allergy and Allergic Diseases, First of Two Parts, New Engl. J. Med. **344**, 30 - 37 (2001a)

A. B. Kay: Allergy and Allergic Diseases, Second of Two Parts, New Engl. J. Med. **344**, 109 - 113 (2001b)

L. E. Kay: Nuclear Magnetic Resonance Methods for High Molecular Weight Proteins: A Study Involving a Complex of Maltose Binding Protein and  $\beta$ -Cyclodextrin, Meth. Enzymol. **339**, 174 - 203 (2001)

L. E. Kay, D. A. Torchia und A. Bax: Backbone Dynamics of Proteins as Studied by <sup>15</sup>N Inverse Detected Heteronuclear NMR Spectroscopy: Application to Staphylococcal Nuclease, Biochemistry **28**, 8972 - 8979 (1989)

L. E. Kay, P. Keifer und T. Saarinen: Pure Absorption Gradient Enhanced Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy with Improved Sensitivity, J. Am. Chem. Soc. **114**, 10663 - 10665 (1992)

A. Kharrat, M. J. Macias, T. J. Gibson, M. Nilges und A. Pastore: Structure of the dsRNA binding domain of *E. coli* RNase III, EMBO J. **14**, 3572 - 3584 (1995)

V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii und A. E. de Groot: Brassinosteroids, Academic Press, San Diego (1999)

I. Kimber, N. I. Kerkvliet, S. L. Taylor, J. D. Astwood, K. Sarlo und R. J. Dearman: Toxicology of Protein Allergenicity: Predection and Characterization, Toxicol. Sci. **48**, 157 - 162 (1999)

T. P. King, D. Hoffman, H. Løwenstein, D. G. Marsh, T. A. E. Platts-Mills und W. Thomas: Allergen Nomenclature, Int. Arch. Allergy Immunol. **105**, 224 - 233 (1994)

S. Kirkpatrick, C. D. Gelatt Jr. und M. P. Vecchi: Optimization by Simulated Annealing, Science **220**, 671 - 680 (1983)

T. Kleber-Janke, R. Crameri, U. Appenzeller, M. Schlaak und W.-M. Becker: Selective Cloning of Peanut Allergens, Including Profilin and 2S Albumins, by Phage Display Technology, Int. Arch. Allergy Immunol. **119**, 265 - 274 (1999)

T. Kleber-Janke, R. Crameri, S. Scheurer, S. Vieths und W.-M. Becker: Patient-tailored cloning of allergens by phage display: Peanut (*Arachis hypogaea*) profilin, a food allergen derived from a rare mRNA, J. Chromatogr. **B756**, 295 - 305 (2001)

J. Kleine-Tebbe, A. Wangorsch, L. Vogel, D. N. Crowell, U.-F. Haustein und S. Vieths: Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22, J. Allergy Clin. Immunol. **110**, 797 - 804 (2002)

G. J. Kleywegt und T. A. Jones: Databases in Protein Crystallography, Acta Cryst. **D54**, 1119 - 1131 (1998)

T. M. G. Koning, R. Boelens und R. Kaptein: Calculation of the Nuclear Overhauser Effect and the Determination of Proton-Proton-Distances in the Presence of Internal Motions, J. Magn. Reson. **90**, 111 - 123 (1990)

J. Kördel, S. Forsén und W. J. Chazin: <sup>1</sup>H NMR Sequential Resonance Assignments, Secondary Structure, and Global Fold in Solution of the Major (*trans*-Pro43) Form of Bovine Calbindin D<sub>9k</sub>, Biochemistry **28**, 7065 - 7074 (1989)

J. Kördel, S. Forsén, T. Drakenberg und W. J. Chazin: The Rate and Structural Consequences of Proline Cis-Trans Isomerization in Calbindin  $D_{9k}$ : NMR Studies of the Minor (*cis*-Pro43) Isoform and the Pro43Gly Mutant, Biochemistry **29**, 4400 - 4409 (1990)

J. Kördel, N. J. Skelton, M. Akke und W. J. Chazin: High-resolution Solution Structure of Calcium-loaded Calbindin D<sub>9k</sub>, J. Mol. Biol. **231**, 711 - 734 (1993)

J. Kördel, D. A. Pearlman und W. J. Chazin: Protein solution structure calculations in solution: Solvated molecular dynamics refinement of calbindin  $D_{9k}$ , J. Biomol. NMR **10**, 231 - 243 (1997)

T. Kos, K. Hoffmann-Sommergruber, F. Ferreira, R. Hirschwehr, H. Ahorn, F. Horak, S. Jager, W. Sperr, D. Kraft und O. Scheiner: Purification, characterization and N-terminal amino acid sequence of a new major allergen from European chestnut pollen - Cas s 1, Biochem. Biophys. Res. Comm. **196**, 1086 - 1092 (1993)

P. J. Kraulis: MOLSCRIPT: a program to produce both detailed and schematic plots of protein structures, J. Appl. Cryst. **24**, 946 - 950 (1991)

P. J. Kraulis, G. M. Clore, M. Nilges, T. A. Jones, G. Pettersson, J. Knowles und A. M. Gronenborn: Determination of the Three-Dimensional Solution Structure of the C-Terminal Domain of Cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei*. A Study Using Nuclear Magnetic Resonance and Hybrid Distance Geometry - Dynamical Simulated Annealing, Biochemistry **28**, 7241 - 7257 (1989)

R. H. Kretsinger und C. E. Nockolds: Carp Muscle Calcium-binding Protein. II. Structure Determination and General Description, J. Biol. Chem. **248**, 3313 - 3326 (1973)

G. J. A. Kroon, M. A. Martinez-Yamout, J. F. Krebs, J. Chung, H. J. Dyson und P. E. Wright: Backbone resonance assignments for the Fv fragment of the catalytic antibody NPN43C9 with bound *p*-nitrophenol, J. Biomol. NMR **15**, 83 - 84 (1999)

H. Kuboniwa, S. Grzesiek, F. Delaglio und A. Bax: Measurement of  $H^{N}-H^{\alpha}$  J couplings in calcium-free calmodulin using new 2D and 3D water flip-back methods, J. Biomol. NMR **4**, 871 - 878 (1994)

H. Kuboniwa, N. Tjandra, S. Grzesiek, H. Ren, C. B. Klee und A. Bax: Solution structure of calcium-free calmodulin, Nature Struct. Biol. **2**, 768 - 776 (1995)

J. Kuby: Immunology, Freeman, New York (1992)

V. D. Kumar, L. Lee und B. F. P. Edwards: Refined Crystal Structure of Calcium-Liganded Carp Parvalbumin 4.25 at 1.5-Å Resolution, Biochemistry **29**, 1404 - 1412 (1990)

I. D. Kuntz, G. M. Crippen und P. A. Kollman: Application of Distance Geometry to Protein Tertiary Structure Calculations, Biopolymers **18**, 939 - 957 (1979)

E. Kupce: Applications of Adiabatic Pulses in Biomolecular Nuclear Magnetic Resonance, Meth. Enzymol. **338**, 82 - 111 (2001)

H. Kurokawa, M. Osawa, H. Kurihara, N. Katayama, H. Tokumitsu, M. B. Swindells, M. Kainosho und M. Ikura: Target-induced Conformational Adaptation of Calmodulin Revealed by the Crystal Structure of a Complex with Nematode Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent Kinase Kinase Peptide, J. Mol. Biol. **312**, 59 - 68 (2001)

J. Kuszweski und G. M. Clore: Sources of and Solutions to Problems in the Refinement of Protein NMR Structures against Torsion Angle Potentials of Mean Force, J. Magn. Reson. **146**, 249 - 254 (2000)

J. Kuszweski, J. Qin, A. M. Gronenborn und G. M. Clore: The Impact of Direct Refinement against  ${}^{13}C^{\alpha}$  and  ${}^{13}C^{\beta}$  Chemical Shifts on Protein Structure Determination by NMR, J. Magn. Reson. **B106**, 92 - 96 (1995)

J. Kuszewski, A. M. Gronenborn und G. M. Clore: Improving the quality of NMR and crystallographic protein structures by means of a conformational database potential derived from structure databases, Protein Sci. **5**, 1067 - 1080 (1996)

J. Kuszewski, A. M. Gronenborn und G. M. Clore: Improvements and Extensions in the Conformational Database Potential for the Refinement of NMR and X-ray Structures of Proteins and Nucleic Acids, J. Magn. Reson. **125**, 171 - 177 (1997)

J. Kuszewski, A. M. Gronenborn und G. M. Clore: Improving the Packing and Accuracy of NMR Structures with a Pseudopotential for the Radius of Gyration, J. Am. Chem. Soc. **121**, 2337 - 2338 (1999)

L. D. Landau und E. M. Lifschitz: Lehrbuch der Theoretischen Physik III, 9. Aufl., Akademie-Verlag, Berlin (1986)

J. N. Larsen, P. Strøman und H. Ipsen: PCR based cloning and sequencing of isogenes encoding the tree pollen major allergen *Car b* I from *Carpinus betulus*, hornbeam, Mol. Immunol. **29**, 703 - 711 (1992)

R. A. Laskowski: SURFNET: A program for visualizing molecular surfaces, cavities, and intermolecular interactions, J. Mol. Graphics **13**, 323 - 330 (1995)

R. A. Laskowski, M. W. MacArthur, D. S. Moss und J. M. Thornton: PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures, J. Appl. Cryst. 26, 283 - 291 (1993)

R. A. Laskowski, J. A. C. Rullmann, M. W. MacArthur, R. Kaptein und J. M. Thornton: AQUA and PROCHECK-NMR: Programs for checking the quality of protein structures solved by NMR, J. Biomol. NMR **8**, 477 - 486 (1996)

T. Lauber, A. Schulz, K. Schweimer, K. Adermann und U. C. Marx: Homologous Proteins with Different Folds: The Three-dimensional Structures of Domains 1 and 6 of the Multiple Kazal-type Inhibitor LEKTI, J. Mol. Biol. **328**, 205 - 219 (2003a)

T. Lauber, P. Neudecker, P. Rösch und U. C. Marx: Solution Structure of Human Proguanylin: The Role of a Hormone Prosequence, J. Biol. Chem. **278**, 24118-24124 (2003b)

A. R. Leach: Molecular Modelling, 2. Aufl., Pearson, Harlow (2001)

A. Ledesma, M. Villalba, E. Batanero und R. Rodríguez: Molecular cloning and expression of active Ole e 3, a major allergen from olive-tree pollen and member of a novel family of  $Ca^{2+}$ -binding proteins (pocalcins) involved in allergy, Eur. J. Biochem. **258**, 454 - 459 (1998)

A. Ledesma, M. Villalba und R. Rodríguez: Cloning, expression and characterization of a novel four EF-hand  $Ca^{2+}$ -binding protein from olive pollen with allergenic activity, FEBS Lett. **466**, 192 - 196 (2000)

A. Ledesma, E. González, C. Y. Pascual, J. Quiralte, M. Villalba und R. Rodríguez: Are Ca<sup>2+</sup>binding motifs involved in the immuoglobulin E-binding of allergens? Olive pollen allergens as model of study, Clin. Exp. Allergy **32**, 1476 - 1483 (2002)

M. H. Levitt: Spin Dynamics, Wiley, Chichester (2001)

A. Lewit-Bentley und S. Réty: EF-hand calcium binding proteins, Curr. Opin. Struct. Biol. **10**, 637 - 643 (2000)

J. Li und J. Chory: A Putative Leucine-Rich Receptor Kinase Involved in Brassinosteroid Signal Transduction, Cell **90**, 929 - 938 (1997)

X. Lin, G.-J. H. Hwang und J. L. Zimmerman: Isolation and Characterization of a Diverse Set of Genes from Carrot Somatic Embryos, Plant. Physiol. **112**, 1365 - 1374 (1996)

G. Lipari und A. Szabo: Effect of Librational Motion on Fluorescence Depolarization and Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Macromolecules and Membranes, Biophys. J. **30**, 489 - 506 (1980)

G. Lipari und A. Szabo: Model-Free Approach to the Interpretation of Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Macromolecules. 1. Theory and Range of Validity, J. Am. Chem. Soc. **104**, 4546 - 4559 (1982a)

G. Lipari und A. Szabo: Model-Free Approach to the Interpretation of Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Macromolecules. 2. Analysis of Experimental Results, J. Am. Chem. Soc. **104**, 4559 - 4570 (1982b)

A. Liu, W. Hu, S. Quamar und A. Majumdar: Sensitivity enhanced NMR spectroscopy by quenching scalar coupling mediated relaxation: Application to the direct observation od hydrogen bonds in  ${}^{13}C/{}^{15}N$ -labeled proteins, J. Biomol. NMR **17**, 55 - 61 (2000a)

A. Liu, W. Hu, A. Majumdar, M. K. Rosen und D. J. Patel: Detection of very weak side chain-main chain hydrogen bonding interactions in medium-size <sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N-labeled proteins by sensitivity-enhanced NMR spectroscopy, J. Biomol. NMR **17**, 79 - 82 (2000b)

S.-C. C. Lo, J. D. Hipskind und R. L. Nicholson: cDNA Cloning of a Sorghum Pathogenesis-Related Protein (PR-10) and Differential Expression of Defense-Related Genes Following Inoculation with *Cochliobolus heterostrophus* or *Colletotrichum sublineolum*, Mol. Plant-Microbe Interact. **12**, 479 - 489 (1999)

D. Lüttkopf, U. Müller, P. S. Skov, B. K. Ballmer-Weber, B. Wüthrich, K. Skamstrup Hansen, L. K. Poulsen, M. Kästner, D. Haustein und S. Vieths: Comparison of four variants of a major allergen in hazelnut (*Corylus avellana*) Cor a 1.04 with the major hazel pollen allergen Cor a 1.01, Mol. Immunol. **38**, 515 - 525 (2001a)

D. Lüttkopf, F. Schocker, S. Scheurer, B. K. Ballmer-Weber, B. Wüthrich, K. Skamstrup Hansen, L. K. Poulsen, D. Haustein und S. Vieths: Cloning, expression and characterisation of profilin as a minor allergen in hazelnut, Allergy **56**, Suppl. 68, 87 (2001b)

V. Mahler, S. Fischer, S. Heiss, M. Duchêne, D. Kraft und R. Valenta: cDNA Cloning and Characterization of a Cross-Reactive Birch Pollen Allergen: Identification as a Pectin Esterase, Int. Arch. Allergy Immunol. **124**, 64 - 66 (2001)

J. L. Markley, A. Bax, Y. Arata, C. W. Hilbers, R. Kaptein, B. D. Sykes, P. E. Wright und K. Wüthrich: Recommendations for the Presentation of NMR Structures of Proteins and Nucleic Acids (IUPAC Recommendations 1998), Pure Appl. Chem. **70**, 117 - 142 (1998)

Z. Markovic-Housley, M. Degano, D. Lamba, E. von Roepenack-Lahaye, S. Clemens, M. Susani, F. Ferreira, O. Scheiner und H. Breiteneder: Crystal Structure of a Hypoallergenic Isoform of the Major Birch Pollen Allergen Bet v 1 and its Likely Biological Function as a Plant Steroid Carrier, J. Mol. Biol. **325**, 123 - 133 (2003)

D. Marion, M. Ikura und A. Bax: Improved Solvent Suppression in One- and Two-Dimensional NMR Spectra by Convolution of Time-Domain Data, J. Magn. Reson. 84, 425 - 430 (1989a)

D. Marion, M. Ikura, R. Tschudin und A. Bax: Rapid Recording of 2D NMR Spectra without Phase Cycling. Applications to the Study of Hydrogen Exchange in Proteins, J. Magn. Reson. **85**, 393 - 399 (1989b)

D. P. Matton und N. Brisson: Cloning, Expression, and Sequence Conservation of Pathogenesis-Related Gene Transcripts of Potato, Mol. Plant-Microbe Interact. 2, 325 - 331 (1989)

D. Mbeguie-A-Mbeguie, R.-M. Gomez und B. Fils-Lycaon: Sequence of an Allergen-, Stress, and Pathogenesis-Related Protein from Apricot Fruit (Accession No. U93165). Gene Expression during Fruit Ripening (PGR 97-180), Plant Physiol. **115**, 1730 (1997)

J. A. McCammon und S. C. Harvey: Dynamics of proteins and nucleic acids, Cambridge University Press, Cambridge (1987)

B. A. McClure, V. Haring, P. R. Ebert, M. A. Anderson, R. J. Simpson, F. Sakiyama und A. E. Clarke: Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana alata* are ribonucleases, Nature **342**, 955 - 957 (1989)

B. A. McClure, J. E. Gray, M. A. Anderson und A. E. Clarke: Self-incompatibility in *Nicotiana alata* involves degradation of pollen rRNA, Nature **347**, 757 - 760 (1990)

J. D. McGee, J. E. Hamer und T. K. Hodges: Characterization of a *PR-10* Pathogenesis-Related Gene Family Induced in Rice During Infection with *Magnaporthe grisea*, Mol. Plant-Microbe Interact. **14**, 877 - 886 (2001)

D. K. McRorie und P. J. Voelker: Self-Associating Systems in the Analytical Ultracentrifuge, Beckman Instruments, Fullerton (1993)

W. E. Meador, A. R. Means und F. A. Quiocho: Target Enzyme Recognition by Calmodulin: 2.4 Å Structure of a Calmodulin-Peptide Complex, Science **257**, 1251 - 1255 (1992)

W. E. Meador, A. R. Means und F. A. Quiocho: Modulation of Calmodulin Plasticity in Molecular Recognition on the Basis of X-ray Structures, Science **262**, 1718 - 1721 (1993)

J. Meiler, J. J. Prompers, W. Peti, C. Griesinger und R. Brüschweiler: Model-Free Approach to the Dynamic Interpretation of Residual Dipolar Couplings in Globular Proteins, J. Am. Chem. Soc. **123**, 6098 - 6107 (2001)

D. P. Meininger, M. Rance, M. A. Starovasnik, W. J. Fairbrother und N. J. Skelton: Characterization of the Binding Interface between the E-Domain of *Staphylococcal* Protein A and an Antibody Fv-Fragment, Biochemistry **39**, 26 - 36 (2000)

E. A. Merritt und M. E. P. Murphy: Raster3D Version 2.0 - A Program for Photorealistic Molecular Graphics, Acta Cryst. **D50**, 869 - 873 (1994)

N. Midoh und M. Iwata: Cloning and Characterization of a Probenazole-Inducible Gene for an Intracellular Pathogenesis-Related Protein in Rice, Plant Cell Physiol. **37**, 9 - 18 (1996)

O. Mirza, A. Henriksen, H. Ipsen, J. N. Larsen, M. Wissenbach, M. D. Spangfort und M. Gajhede: Dominant Epitopes and Allergic Cross-Reactivity: Complex Formation Between a Fab Fragment of a Monoclonal Murine IgG Antibody and the Major Allergen from Birch Pollen Bet v 1, J. Immunol. **165**, 331 - 338 (2000)

P. C. Moews und R. H. Kretsinger: Refinement of the Structure of Carp Muscle Calciumbinding Parvalbumin by Model Building and Difference Fourier Analysis, J. Mol. Biol. **91**, 201 - 228 (1975)

J. E. Mogensen, R. Wimmer, J. N. Larsen, M. Spangfort und D. E. Otzen: The Major Birch Allergen, Bet v 1, Shows Affinity for a Broad Spectrum of Physiological Ligands, J. Biol. Chem. **277**, 23684 - 23692 (2002)

G. P. Moiseyev, J. J. Beintema, L. I. Fedoreyeva und G. I. Yakovlev: High sequence similarity between a ribonuclease from *ginseng* calluses and fungus-elicited proteins from parsley indicates that intracellular pathogenesis-related proteins are ribonucleases, Planta **193**, 470 - 472 (1994)

G. P. Moiseyev, L. I. Fedoreyeva, Y. N. Zhuravlev, E. Yanetskaya, P. A. Jekel und J. J. Beintema: Primary structures of two ribonucleases from ginseng calluses, FEBS Lett. **407**, 207 - 210 (1997)

I. Moneo, M. Gómez, R. Sánchez-Monge, E. Alday, M. de las Heras, I. Esteban, A. Bootello und G. Salcedo: Lack of crossreaction with Bet v 1 in patients sensitized to Dau c 1, a carrot allergen, Ann. Allergy Asthma Immunol. **83**, 71 - 75 (1999)

S. Mori, C. Abeygunawardana, M. O'Neil Johnson und P. C. M. van Zijl: Improved Sensitivity of HSQC Spectra of Exchanging Protons at Short Interscan Delays Using a New Fast HSQC (FHSQC) Detection Scheme That Avoids Water Saturation, J. Magn. Reson. **B108**, 94 - 98 (1995)

R. Movérare, L. Elfman, E. Vesterinen, T. Metso und T. Haahtela: Development of new IgE specificities to allergenic components in birch pollen extract during specific immunotherapy studied with immunoblotting and Pharmacia CAP System<sup>TM</sup>, Allergy **57**, 423 - 430 (2002)

L. A. J. Mur, G. Naylor, S. A. J. Warner, J. M. Sugars, R. F. White und J. Draper: Salicylic acid potentiates defence gene expression in tissue exhibiting acquired resistance to pathogen attack, Plant J. 9, 559 - 571 (1996)

P. Mutzenhardt und G. Bodenhausen: A Spectral Window in Protein NMR Revealing Cross-Relaxation between Amide Protons, J. Magn. Reson. **132**, 159 - 161 (1998)

P. Mylona, M. Moerman, W.-C. Yang, T. Gloudemans, J. Van De Kerckhove, A. van Kammen, T. Bisseling und H. J. Franssen: The root epidermis-specific pea gene RH2 is homologous to a pathogenesis-related gene, Plant Mol. Biol. **26**, 39 - 50 (1994)

J. Nerkamp: Expression, Reinigung und spektroskopische Charakterisierung von Pru a 1, dem Hauptallergen der Kirsche, Diplomarbeit, Universität Bayreuth (1998)

J. Nerkamp: Strukturbestimmung des Birkenpollenallergens Bet v 4, Dissertation, Universität Bayreuth (2002)

P. Neudecker: Strukturbestimmung von Pru a 1, Diplomarbeit, Universität Bayreuth (2000)

P. Neudecker, K. Schweimer, J. Nerkamp, M. Boehm, S. Scheurer, S. Vieths, H. Sticht und P. Rösch: Sequence-specific <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N resonance assignments of the major cherry allergen Pru a 1, J. Biomol. NMR **18**, 71 - 72 (2000)

P. Neudecker, K. Schweimer, J. Nerkamp, S. Scheurer, S. Vieths, H. Sticht und P. Rösch: Allergic Cross-reactivity Made Visible. Solution Structure of the Major Cherry Allergen Pru av 1, J. Biol. Chem. **276**, 22756 - 22763 (2001a)

P. Neudecker, H. Sticht und P. Rösch: Improving the efficiency of the Gaussian conformational database potential for the refinement of protein and nucleic acid structures, J. Biomol. NMR **21**, 373 - 375 (2001b)

P. Neudecker, K. Lehmann und P. Rösch: Sequence-specific <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N resonance assignments of SAM22, an allergenic stress-induced protein from soy bean, J. Biomol. NMR **26**, 191 - 192 (2003a)

P. Neudecker, K. Lehmann, J. Nerkamp, T. Haase, A. Wangorsch, K. Fötisch, S. Hoffmann, P. Rösch, S. Vieths und S. Scheurer: Mutational epitope analysis of Pru av 1 and Api g 1, the major allergens of cherry and celery: correlating IgE reactivity with three-dimensional structure, Biochem. J. **376**, 97 - 107 (2003b)

C. L. Nessler und R. J. Burnett: Organization of the major latex protein gene family in opium poppy, Plant Mol. Biol. **20**, 749 - 752 (1992)

A. Nicholls und B. Honig: A Rapid Finite Difference Algorithm, Utilizing Successive Over-Relaxation to Solve the Poisson-Boltzmann Equation, J. Comp. Chem. **12**, 435 - 445 (1991) A. Nicholls, K. A. Sharp und B. Honig: Protein Folding and Association: Insights From the Interfacial and Thermodynamic Properties of Hydrocarbons, Proteins **11**, 281 - 296 (1991)

V. Niederberger, B. Hayek, S. Vrtala, S. Laffer, A. Twardosz, L. Vangelista, W. R. Sperr, P. Valent, H. Rumpold, D. Kraft, K. Ehrenberger, R. Valenta und S. Spitzauer: Calcium-dependent immunoglobulin E recognition of the apo- and calcium-bound form of a cross-reactive two EF-hand timothy grass pollen allergen, Phl p 7, FASEB J. **13**, 843 - 856 (1999)

A. Nieto, A. Mazón, M. Boquete, F. Carballada, J. A. Asturias, J. Martínez und A. Martínez: Assessment of profilin as an allergen for latex-sensitized patients, Allergy **57**, 776 - 784 (2002)

M. Nilges und S. I. O'Donoghue: Ambiguous NOEs and automated NOE assignment, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. **32**, 107 - 139 (1998)

M. Nilges, G. M. Clore und A. M. Gronenborn: Determination of three-dimensional structures of proteins from interproton distance data by hybrid distance geometry-dynamical simulated annealing calculations, FEBS Lett. **229**, 317 - 324 (1988a)

M. Nilges, G. M. Clore und A. M. Gronenborn: Determination of three-dimensional structures of proteins from interproton distance data by dynamical simulated annealing from a random array of atoms, FEBS Lett. **239**, 129 - 136 (1988b)

M. Nilges, A. M. Gronenborn, A. T. Brünger und G. M. Clore: Determination of threedimensional structures of proteins by simulated annealing with interproton distance restraints. Application to crambin, potato carboxypeptidase inhibitor and barley serine proteinase inhibitor 2, Protein Eng. 2, 27 - 38 (1988c)

T. Okada, I. Swoboda, P. L. Bhalla, K. Toriyama und M. B. Singh: Engineering of hypoallergenic mutants of the *Brassica* pollen allergen, Bra r 1, for immunotherapy, FEBS Lett. **434**, 255 - 260 (1998)

T. Okada, Z. Zhang, S. D. Russell und K. Toriyama: Localization of the Ca<sup>2+</sup>-Binding Protein, Bra r 1, in Anthers and Pollen Tubes, Plant Cell Physiol. **40**, 1243 - 1252 (1999)

T. Okada, Y. Sasaki, R. Ohta, N. Onozuka und K. Toriyama: Expression of *Bra r 1* Gene in Transgenic Tobacco and *Bra r 1* Promoter Activity in Pollen of Various Plant Species, Plant Cell Physiol. **41**, 757 - 766 (2000)

L.-L. Olsson und L. Sjölin: Structure of *Escherichia coli* fragment TR<sub>2</sub>C from calmodulin to 1.7 Å resolution, Acta Cryst. **D57**, 664 - 669 (2001)

M. Osawa, H. Tokumitsu, M. B. Swindells, H. Kurihara, M. Orita, T. Shibanuma, T. Furuya und M. Ikura: A novel target recognition revealed by calmodulin in complex with  $Ca^{2+}$ -calmodulin-dependent kinase kinase, Nature Struct. Biol. **6**, 819 - 824 (1999)

P. Osmark, B. Boyle und N. Brisson: Sequential and structural homology between intracellular pathogenesis-related proteins and a group of latex proteins, Plant Mol. Biol. **38**, 1243 - 1246 (1998)

M. Ottiger, F. Delaglio und A. Bax: Measurement of *J* and Dipolar Couplings from Simplified Two-Dimensional NMR Spectra, J. Magn. Reson. **131**, 373 - 378 (1998)

A. Padilla, A. Cavé und J. Parello: Two-dimensional <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Study of Pike pI 5.0 Parvalbumin (*Esox lucius*), J. Mol. Biol. **204**, 995 - 1017 (1988)

E. F. Pai, U. Krengel, G. A. Petsko, R. S. Goody, W. Kabsch und A. Wittinghofer: Refined crystal structure of the triphosphate conformation of H-*ras* p21 at 1.35 Å resolution: implications for the mechanism of GTP hydrolysis, EMBO J. **9**, 2351 - 2359 (1990)

A. Pardi, M. Billeter und K. Wüthrich: Calibration of the angular dependence of the amide proton - C $\alpha$  proton coupling constants,  ${}^{3}J_{HNH\alpha}$ , in a globular protein, J. Mol. Biol. **180**, 741 - 751 (1984)

N. H. Pawley, C. Wang, S. Koide und L. K. Nicholson: An improved method for distinguishing between anisotropic tumbling and chemical exchange in analysis of <sup>15</sup>N relaxation parameters, J. Biomol. NMR **20**, 149 - 165 (2001)

S. J. Perkins: X-Ray and neutron scattering analyses of hydration shells: a molecular interpretation based on sequence prediction and modelling fits, Biophys. Chem. **93**, 129 - 139 (2001)

F. Perrin: Mouvement brownien d'un ellipsoïde (I). Dispersion diélectrique pour des molécules ellipsoïdales, J. Phys. Radium 5, 497 - 511 (1934)

F. Perrin: Mouvement brownien d'un ellipsoïde (II). Rotation libre et dépolarisation des fluorescences. Translation et diffusion de molécules ellipsoïdales, J. Phys. Radium 7, 1 - 11 (1936)

M. P. Pinto und C. P. P. Ricardo: *Lupinus albus* L. Pathogenesis-Related Proteins That Show Similarity to PR-10 Proteins, Plant Physiol. **109**, 1345 - 1351 (1995)

M. Piotto, V. Saudek und V. Sklenar: Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions, J. Biomol. NMR **2**, 661 - 665 (1992)

M. J. D. Powell: Restart procedures for the conjugate gradient method, Mathem. Progr. 12, 241 - 254 (1977)

J. Pozueta-Romero, M. Klein, G. Houlné, M.-L. Schantz, B. Meyer und R. Schantz: Characterization of a family of genes encoding a fruit-specific wound-stimulated protein of bell pepper (*Capsicum annuum*): identification of a new family of transposable elements, Plant Mol. Biol. **28**, 1011 - 1025 (1995)

H. Pühringer, D. Moll, K. Hoffmann-Sommergruber, B. Watillon, H. Katinger und M. Laimer da Câmaro Machado: The promoter of an apple *Ypr10* gene, encoding the major allergen Mal d 1, is stress- and pathogen-inducible, Plant Sci. **152**, 35 - 50 (2000)

K. Rajashankar, A. Bufe, W. Weber, S. Eschenburg, B. Lindner und C. Betzel: Structure of the functional domain of the major grass-pollen allergen Phlp 5b, Acta Cryst. **D58**, 1175 - 1181 (2002)

M. Rance: Improved Techniques for Homonuclear Rotating-Frame and Isotropic Mixing Experiments, J. Magn. Reson. **74**, 557 - 564 (1987)

S. T. Rao, S. Wu, K. A. Satyshur, K.-Y. Ling, C. Kung und M. Sundaralingam: Structure of *Paramecium tetraurelia* calmodulin at 1.8 Å resolution, Protein Sci. **2**, 436 - 447 (1993)

F. Reif: Statistische Physik und Theorie der Wärme, 2. Aufl., de Gruyter, Berlin (1985)

J. Reindl, H.-P. Rihs, S. Scheurer, A. Wangorsch, D. Haustein und S. Vieths: IgE Reactivity to Profilin in Pollen-Sensitized Subjects with Adverse Reactions to Banana and Pineapple, Int. Arch. Allergy Immunol. **128**, 105 - 114 (2002)

A. R. Rhoads und F. Friedberg: Sequence motifs for calmodulin recognition, FASEB J. 11, 331 - 340 (1997)

W. Richter und W. S. Warren: Intermolecular Multiple Quantum Coherences in Liquids, Concepts Magn. Reson. **12**, 396 - 409 (2000)

H.-P. Rihs, Z. Chen, F. Ruëff, A. Petersen, P. Rozynek, H. Heimann und X. Baur: IgE binding of the recombinant allergen soybean profilin (rGly m 3) is mediated by conformational epitopes, J. Allergy Clin. Immunol. **104**, 1293 - 1301 (1999)

H.-P. Rihs, Z. Chen, P. Rozynek, X. Baur, M. Lundberg und R. Cremer: PCR-based cloning, isolation, and IgE-binding properties of recombinant latex profilin (rHev b 8), Allergy **55**, 712 - 717 (2000)

S. L. Roderick, W. W. Chan, D. S. Agate, L. R. Olsen, M. V. Vetting, K. R. Rajashankar und D. E. Cohen: Structure of human phosphatidylcholine transfer protein in complex with its ligand, Nature Struct. Biol. **9**, 507 - 511 (2002)

R. Rodríguez-Perez, M. Fernández-Rivas, E. González-Mancebo, R. Sánchez-Monge, A. Díaz-Perales und G. Salcedo: Peach profilin: cloning, heterologous expression and cross-reactivity with Bet v 2, Allergy **58**, 635 - 640 (2003)

M. J. Romanowski, R. E. Soccio, J. L. Breslow und S. K. Burley: Crystal structure of the *Mus musculus* cholesterol-regulated START protein 4 (StarD4) containing a StAR-related lipid transfer domain, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99**, 6949 - 6954 (2002)

P. Rösch: Nuclear magnetic resonance studies of allergens, J. Chromatogr. **B756**, 165 - 177 (2001)

M. E. Rose: Elementary Theory of Angular Momentum, Wiley, New York (1957)

K. Rozwadowski, R. Zhao, L. Jackman, T. Huebert, W. E. Burkhart, S. M. Hemmingsen, J. Greenwood und S. J. Rothstein: Characterization and Immunolocalization of a Cytosolic Calcium-Binding Protein from *Brassica napus* and Arabidopsis Pollen, Plant Physiol. **120**, 787 - 797 (1999)

J.-P. Ryckaert, G. Ciccotti und H. J. C. Berendsen: Numerical Integration of the Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of n-Alkanes, J. Comput. Phys. **23**, 327 - 341 (1977)

M. Salanoubat, K. Lemcke, M. Rieger, W. Ansorge, M. Unseld, B. Fartmann, G. Valle, H. Blöcker, M. Perez-Alonso, B. Obermaier, M. Delseny, M. Boutry, L. A. Grivell, R. Mache, P. Puigdomènech, V. De Simone, N. Choisne, F. Artiguenave, C. Robert, P. Brottier, P. Wincker, L. Cattolico, J. Weissenbach, W. Saurin, F. Quétier, M. Schäfer, S. Müller-Auer, C. Gabel, M. Fuchs, V. Benes, E. Wurmbach, H. Drzonek, H. Erfle, N. Jordan, S. Bangert, R. Wiedelmann, H. Kranz, H. Voss, R. Holland, P. Brandt, G. Nyakatura, A. Vezzi, M. D'Angelo, A. Pallavicini, S. Toppo, B. Simionati, A. Conrad, K. Hornischer, G. Kauer, T.-H. Löhnert, G. Nordsiek, J. Reichelt, M. Scharfe, O. Schön, M. Bargues, J. Terol, J. Climent, P. Navarro, C. Collado, A. Perez-Perez, B. Ottenwälder, D. Duchemin, R. Cooke, M. Laudie, C. Berger-Llauro, P. Purnelle, D. Masuy, M. de Haan, A. C. Maarse, J.-P. Alcaraz, A. Cottet, E. Casacuberta, A. Monfort, A. Argiriou, M. Flores, R. Liguori, D. Vitale, G. Mannhaupt, D. Haase, H. Schoof, S. Rudd, P. Zaccaria, H. W. Mewes, K. F. X. Mayer, S. Kaul, C. D. Town, H. L. Koo, L. J. Tallon, J. Jenkins, T. Rooney, M. Rizzo, A. Walts, T. Utterback, C. Y. Fujii, T. P. Shea, T. H. Creasy, B. Haas, R. Maiti, D. Wu, J. Peterson, S. Van Aken, G. Pai, J. Militscher, P. Sellers, J. E. Gill, T. V. Feldblyum, D. Preuss, X. Lin, W. C. Nierman, S. L. Salzberg, O. White, J. C. Venter, C. M. Fraser, T. Kaneko, Y. Nakamura, S. Sato, T. Kato, E. Asamizu, S. Sasamoto, T. Kimura, K. Idesawa, K. Kawashima, Y. Kishida, C. Kiyokawa, M. Kohara, M. Matsumoto, A. Matsuno, A. Muraki, S. Nakayama, N. Nakazaki, S. Shinpo, C. Takeuchi, T. Wada, A. Watanabe, M. Yamada, M. Yasuda und S. Tabata: Sequence and analysis of chromosome 3 of the plant *Arabidopsis thaliana*, Nature **408**, 820 - 822 (2000)

J. Sandström: Dynamic NMR Spectroscopy, Academic Press, London (1982)

M. Saraste, P. R. Sibbald und A. Wittinghofer: The P-loop - a common motif in ATP- and GTP-binding proteins, Trends Biochem. Sci. **15**, 430 - 434 (1990)

H.-J. Sass, F. Cordier, A. Hoffmann, M. Rogowski, A. Cousin, J. G. Omichinski, H. Löwen und S. Grzesiek: Purple Membrane Induced Alignment of Biological Macromolecules in the Magnetic Field, J. Am. Chem. Soc. **121**, 2047 - 2055 (1999)

H.-J. Sass, G. Musco, S. J. Stahl, P. T. Wingfield und S. Grzesiek: An easy way to include weak alignment constraints into NMR structure calculations, J. Biomol. NMR **21**, 275 - 280 (2001)

J. Sasse: Physiological Actions of Brassinosteroids, in A. Sakurai, T. Yokota und S. D. Clouse (Hrsg.): Brassinosteroids, Springer, Tokio, S. 137 - 161 (1999)

M. Sattler, M. G. Schwendinger, J. Schleucher und C. Griesinger: Novel strategies for the sensitivity enhancement in heteronuclear multidimensional NMR experiments employing pulsed field gradients, J. Biomol. NMR 5, 11 - 22 (1995)

M. Sattler, J. Schleucher und C. Griesinger: Heteronuclear multidimensional NMR experiments for the structure determination of proteins in solution employing pulsed field gradients, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. **34**, 93 - 158 (1999)

K. A. Satyshur, S. T. Rao, D. Pyzalska, W. Drendel, M. Greaser und M. Sundaralingam: Refined Structure of Chicken Skeletal Muscle Troponin C in the Two-calcium State at 2-Å Resolution, J. Biol. Chem. **263**, 1628 - 1647 (1988)

K. A. Satyshur, D. Pyzalska, M. Greaser, S. T. Rao und M. Sundaralingam: Structure of Chicken Skeletal Muscle Troponin C at 1.78 Å Resolution, Acta Cryst. **D50**, 40 - 49 (1994)

A. Saupe: Kernresonanzen in kristallinen Flüssigkeiten und in kristallinflüssigen Lösungen. Teil I, Z. Naturforschg. **19a**, 161 - 171 (1964)

A. Saupe und G. Englert: High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Orientated Molecules, Phys. Rev. Lett. **11**, 462 - 464 (1963)

R. Sayle: RasMol V2.6, Glaxo Wellcome Research and Development, Stevenage (1995)

S. Scheurer, K. Metzner, D. Haustein und S. Vieths: Molecular cloning, expression and characterization of Pru a 1, the major cherry allergen, Mol. Immunol. **34**, 619 - 629 (1997)

S. Scheurer, D. Y. Son, M. Boehm, F. Karamloo, S. Franke, A. Hoffmann, D. Haustein und S. Vieths: Cross-reactivity and epitope analysis of Pru a 1, the major cherry allergen, Mol. Immunol. **36**, 155 - 167 (1999)

S. Scheurer, A. Wangorsch, D. Haustein und S. Vieths: Cloning of the minor allergen Api g 4 profilin from celery (*Apium graveolens*) and its cross-reactivity with birch pollen profilin Bet v 2, Clin. Exp. Allergy **30**, 962 - 971 (2000)

S. Scheurer, A. Wangorsch, J. Nerkamp, P. S. Skov, B. Ballmer-Weber, B. Wüthrich, D. Haustein und S. Vieths: Cross-reactivity within the profilin panallergen family investigated by comparison of recombinant profilins from pear (Pyr c 4), cherry (Pru av 4) and celery (Api g 4) with birch pollen profilin Bet v 2, J. Chromatogr. **B756**, 315 - 325 (2001a)

S. Scheurer, E. A. Pastorello, A. Wangorsch, M. Kästner, D. Haustein und S. Vieths: Recombinant allergens Pru av 1 and Pru av 4 and a newly identified lipid transfer protein in the in vitro diagnosis of cherry allergy, J. Allergy Clin. Immunol. **107**, 724 - 731 (2001b)

L. I. Schiff: Quantum Mechanics, 3. Aufl., McGraw-Hill, New York (1968)

J. Schleucher, M. G. Schwendinger, M. Sattler, P. Schmidt, O. Schedletzky, S. J. Glaser, O. W. Sørensen und C. Griesinger: A general enhancement scheme in heteronuclear multidimensional NMR employing pulsed field gradients, J. Biomol. NMR **4**, 301 - 306 (1994)

E. Schmelzer, S. Krüger-Lebus und K. Hahlbrock: Temporal and Spatial Patterns of Gene Expression around Sites of Attempted Fungal Infection in Parsley Leaves, Plant Cell 1, 993 - 1001 (1989)

B. Schöning, S. Vieths, A. Petersen und W. Baltes: Identification and Characterisation of Allergens related to *Bet v* I, the Major Birch Pollen Allergen, in Apple, Cherry, Celery and Carrot by Two-Dimensional Immunoblotting and *N*-Terminal Microsequencing, J. Sci. Food Agric. **67**, 431 - 440 (1995)

B. Schöning, W. H. Ziegler, S. Vieths und W. Baltes: Apple Allergy: The cDNA Sequence of the Major Allergen of Apple, Determined by Performing PCR with a Primer Based on the *N*-Terminal Amino Acid Sequence, is Highly Homologous to the Sequence of the Major Birch Pollen Allergen, J. Sci. Food Agric. **71**, 475 - 482 (1996)

A. Schouten, B. Agianian, J. Westerman, J. Kroon, K. W. A. Wirtz und P. Gros: Structure of apo-phosphatidylinositol transfer protein  $\alpha$  provides insight into membrane association, EMBO J. **21**, 2117 - 2121 (2002)

K. Schumacher und J. Chory: Brassinosteroid signal transduction: still casting the actors, Curr. Opin. Plant Biol. **3**, 79 - 84 (2000)

K. Schweimer: Linear Prediction, spektrale Dekonvolution und digitale Filter - Hilfsmittel zur Prozessierung mehrdimensionaler NMR-Daten, Diplomarbeit, Universität Bayreuth (1997)

K. Schweimer: Mehrdimensionale heteronukleare NMR Spektroskopie zur Bestimmung der Strukturen des Birkenpollenallergens Bet v 1, des *Guillardia theta* Rubredoxins und des [2Fe-2S] Ferredoxins aus *Halobacterium salinarum*, Dissertation, Universität Bayreuth (2000)

K. Schweimer, H. Sticht, J. Nerkamp, M. Boehm, M. Breitenbach, S. Vieths und P. Rösch: NMR Spectroscopy Reveals Common Structural Features of the Birch Pollen Allergen Bet v 1 and the Cherry Allergen Pru a 1, Appl. Magn. Reson. **17**, 449 - 464 (1999)

K. Schweimer, S. Hoffmann, F. Bauer, U. Friedrich, C. Kardinal, S. M. Feller, B. Biesinger und H. Sticht: Structural Investigation of the Binding of a Herpesviral Protein to the SH3 Domain of Tyrosine Kinase Lck, Biochemistry **41**, 5120 - 5130 (2002)

C. D. Schwieters, J. J. Kuszewski, N. Tjandra und G. M. Clore: The Xplor-NIH NMR molecular structure determination package, J. Magn. Reson. **160**, 65 - 73 (2003)

S. Seiberler, O. Scheiner, D. Kraft und R. Valenta: Homology of Two cDNAs Coding for Birch Pollen Allergens with Calmodulin: Protein-Bound Ca<sup>2+</sup> Affects the IgE-Binding Capacity, Int. Arch. Allergy Immunol. **99**, 380 - 381 (1992)

S. Seiberler, O. Scheiner, D. Kraft, D. Lonsdale und R. Valenta: Characterization of a birch pollen allergen, *Bet v* III, representing a novel class of  $Ca^{2+}$  binding proteins; specific expression in mature pollen and dependence of patients' IgE binding on protein-bound  $Ca^{2+}$ , EMBO J. **13**, 3481 - 3486 (1994)

A. J. Shaka, J. Keeler und R. Freeman: Evaluation of a New Broadband Decoupling Sequence: WALTZ-16, J. Magn. Reson. 53, 313 - 340 (1983)

A. J. Shaka, P. B. Barker und R. Freeman: Computer-Optimized Decoupling Scheme for Wideband Applications and Low-Level Operation, J. Magn. Reson. **64**, 547 - 552 (1985)

A. J. Shaka, C. J. Lee und A. Pines: Iterative Schemes for Bilinear Operators; Application to Spin Decoupling, J. Magn. Reson. **77**, 274 - 293 (1988)

M. M. Sikorski, J. Biesiadka, A. E. Kasperska, J. Kopcinska, B. Lotocka, W. Golinowski und A. B. Legocki: Expression of genes encoding PR10 class pathogenesis-related proteins is inhibited in yellow lupine root nodules, Plant Sci. **149**, 125 - 137 (1999)

N. J. Skelton, J. Kördel, M. Akke, S. Forsén und W. J. Chazin: Signal transduction versus buffering activity in Ca<sup>2+</sup>-binding proteins, Nature Struct. Biol. **1**, 239 - 245 (1994)

V. Sklenar, M. Piotto, R. Leppik und V. Saudek: Gradient-Tailored Water Suppression for <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC Experiments Optimized to Retain Full Sensitivity, J. Magn. Reson. **A102**, 241 - 245 (1993)

L. A. Ae. Slyuterman und O. Elgersma: Chromatofocusing: Isoelectric focusing on ionexchange colums, J. Chromatogr. **150**, 17 - 30 (1978)

C. P. Slichter: Principles of Magnetic Resonance, 3. Aufl., Springer, Berlin (1990)

P. M. Smith, H. Xu, I. Swoboda und M. B. Singh: Identification of a Ca<sup>2+</sup> Binding Protein as a New Bermuda Grass Pollen Allergen Cyn d 7: IgE Cross-Reactivity with Oilseed Rape Pollen Allergen Bra r 1, Int. Arch. Allergy Immunol. **114**, 265 - 271 (1997)

R. E. Soccio, R. M. Adams, M. J. Romanowski, E. Sehayek, S. K. Burley und J. L. Breslow: The cholesterol-regulated StarD4 gene encodes a StAR-related lipid transfer protein with two closely related homologues, StarD5 und StarD6, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99**, 6943 - 6948 (2002)

I. E. Somssich, E. Schmelzer, J. Bollmann und K. Hahlbrock: Rapid activation by fungal elicitor of genes encoding "pathogenesis-related" proteins in cultured parsley cells, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **83**, 2427 - 2430 (1986)

I. E. Somssich, E. Schmelzer, P. Kawalleck und K. Hahlbrock: Gene structure and in situ transcript localization of pathogenesis-related protein 1 in parsley, Mol. Gen. Genet. **213**, 93 - 98 (1988)

I. E. Somssich, J. Bollmann, K. Hahlbrock, E. Kombrink und W. Schulz: Differential early activation of defense-related genes in elicitor-treated parsley cells, Plant Mol. Biol. **12**, 227 - 234 (1989)

D. Y. Son, S. Scheurer, A. Hoffmann, D. Haustein und S. Vieths: Pollen-related food allergy: cloning and immunological analysis of isoforms and mutants of Mal d 1, the major apple allergen, and Bet v 1, the major birch pollen allergen, Eur. J. Nutr. **38**, 201 - 215 (1999)

M. D. Spangfort, M. Gajhede, P. Osmark, F. M. Poulsen, H. Ipsen, J. N. Larsen, R. J. J. van Neerven, C. Schou und H. Løwenstein: Three-Dimensional Structure and Epitopes of Bet v 1, Int. Arch. Allergy Immunol. **113**, 243 - 245 (1997)

M. D. Spangfort, O. Mirza, L. A. Svensson, J. N. Larsen, M. Gajhede und Henrik Ipsen: Crystallization and preliminary X-ray analysis of birch-pollen allergen Bet v 1 in complex with a murine monoclonal IgG Fab' fragment, Acta Cryst. **D55**, 2035 - 2036 (1999)

S. Spera und A. Bax: Empirical Correlation between Protein Backbone Conformation and C $\alpha$  and C $\beta$  <sup>13</sup>C Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shifts, J. Am. Chem. Soc. **113**, 5490 - 5492 (1991)

D. J. States, R. A. Haberkorn und D. J. Ruben: A Two-Dimensional Nuclear Overhauser Experiment with Pure Absorption Phase in Four Quadrants, J. Magn. Reson. **48**, 286 - 292 (1982)

H. Sticht: Vom NMR-Spektrum zur dreidimensionalen Struktur von Proteinen: Die Strukturbestimmung des menschlichen Amyloids A4, des Ferredoxins aus *Thermotoga maritima* und des Chemokins Chi1, Dissertation, Universität Bayreuth (1995)

H. Sticht, A. R. Pickford, J. R. Potts und I. D. Campbell: Solution Structure of the Glycosylated Second Type 2 Module of Fibronectin, J. Mol. Biol. **276**, 177 - 187 (1998)

D. M. Stocco: StARTing to understand cholesterol transfer, Nature Struct. Biol. 7, 445 - 447 (2000)

Ö. Strannegård und I.-L. Strannegård: The causes of the increasing prevalence of allergy: is atopy a microbial deprivation disorder?, Allergy **56**, 91 - 102 (2001)

J. F. Strauss III, T. Kishida, L. K. Christenson, T. Fujimoto und H. Hiroi: START domain proteins and the intracellular trafficking of cholesterol in steroidogeneic cells, Mol. Cell. Endocrinol. **28**, 59 - 65 (2003)

M. V. Strömvik, V. P. Sundararaman und L. O. Vodkin: A novel promoter from soybean that is active in a complex developmental pattern with and without its proximal 650 base pairs, Plant Mol. Biol. **41**, 217 - 231 (1999)

L. Stryer: Biochemistry, 4. Aufl., Freeman, New York (1995)

N. C. J. Strynadka und M. N. G. James: Crystal Structures of the Helix-Loop-Helix Calcium-Binding Proteins, Annu. Rev. Biochem. **58**, 951 - 998 (1989)

N. C. J. Strynadka und M. N. G. James: Towards an understanding of the effects of calcium on protein structure and function, Curr. Opin. Struct. Biol. **1**, 905 - 914 (1991)

N. C. J. Strynadka, M. Cherney, A. R. Sielecki, M. X. Li, L. B. Smillie und M. N. G. James: Structural Details of a Calcium-induced Molecular Switch: X-ray Crystallographic Analysis of the Calcium-saturated N-Terminal Domain of Troponin C at 1.75 Å Resolution, J. Mol. Biol. **273**, 238 - 255 (1997)

M. Sundaralingam, R. Bergstrom, G. Strasburg, S. T. Rao, P. Roychowdhury, M. Greaser und B. C. Wang: Molecular Structure of Troponin C from Chicken Skeletal Muscle at 3-Angstrom Resolution, Science **227**, 945 - 948 (1985)

C. Suphioglu, F. Ferreira und R. B. Knox: Molecular cloning and immunological characterisation of Cyn d 7, a novel calcium-binding allergen from Bermuda grass pollen, FEBS Lett. **402**, 167 - 172 (1997)

L. A. Svensson, E. Thulin und S. Forsén: Proline *Cis-Trans* Isomers in Calbindin  $D_{9k}$ Observed by X-ray Crystallography, J. Mol. Biol. **223**, 601 - 606 (1992) A. L. Swain, R. H. Kretsinger und E. L. Amma: Restrained Least Squares Refinement of Native (Calcium) and Cadmium-substituted Carp Parvalbumin Using X-ray Crystallographic Data at 1.6-Å Resolution, J. Biol. Chem. **264**, 16620 - 16628 (1989)

I. Swoboda, O. Scheiner, D. Kraft, M. Breitenbach, E. Heberle-Bors und O. Vicente: A birch gene family encoding pollen allergens and pathogenesis-related proteins, Biochim. Biophys. Acta **1219**, 457 - 464 (1994)

I. Swoboda, A. Jilek, F. Ferreira, E. Engel, K. Hoffmann-Sommergruber, O. Scheiner, D. Kraft, H. Breiteneder, E. Pittenauer, E. Schmid, O. Vicente, E. Heberle-Bors, H. Ahorn und M. Breitenbach: Isoforms of Bet v 1, the Major Birch Pollen Allergen, Analyzed by Liquid Chromatography, Mass Spectrometry, and cDNA Cloning, J. Biol. Chem. **270**, 2607 - 2613 (1995a)

I. Swoboda, O. Scheiner, E. Heberle-Bors und O. Vicente: cDNA cloning and characterization of three genes in the *Bet v 1* gene family that encode pathogenesis-related proteins, Plant Cell Environ. **18**, 865 - 874 (1995b)

I. Swoboda, K. Hoffmann-Sommergruber, G. O'Ríordáin, O. Scheiner, E. Heberle-Bors und O. Vicente: Bet v 1 proteins, the major birch pollen allergens and members of a family of conserved pathogenesis-related proteins, show ribonuclease activity in vitro, Physiol. Pant. **96**, 433 - 438 (1996)

D. M. E. Szebenyi und K. Moffat: The Refined Structure of Vitamin D-dependent Calciumbinding Protein from Bovine Intestine, J. Biol. Chem. **261**, 8761 - 8777 (1986)

D. M. E. Szebenyi, S. K. Obendorf und K. Moffat: Structure of vitamin D-dependent calciumbinding protein from bovine intestine, Nature **294**, 327 - 332 (1981)

S. Tabata, T. Kaneko, Y. Nakamura, H. Kotani, T. Kato, E. Asamizu, N. Miyajima, S. Sasamoto, T. Kimura, T. Hosouchi, K. Kawashima, M. Kohara, M. Matsumoto, A. Matsuno, A. Muraki, S. Nakayama, N. Nakazaki, N. Naruo, S. Okumura, S. Shinpo, C. Takeuchi, T. Wada, A. Watanabe, M. Yamada, S. Yasuda, S. Sato, M. de la Bastide, E. Huang, L. Spiegel, L. Gnoj, A. O'Shaughnessy, R. Preston, K. Habermann, J. Murray, D. Johnson, T. Rohlfing, J. Nelson, T. Stoneking, K. Pepin, J. Spieth, M. Sekhon, J. Armstrong, M. Becker, E. Belter, H. Cordum, M. Cordes, L. Courtney, M. Dante, H. Du, J. Edwards, J. Fryman, B. Haakensen, E. Lamar, P. Latreille, S. Leonard, R. Meyer, E. Mulvaney, P. Ozersky, A. Riley, C. Strowmatt, C. Wagner-McPherson, A. Wollam, M. Yoakum, M. Bell, N. Dedhia, L. Parnell, R. Shah, M. Rodriguez, L. Hoon See, D. Vil, J. Baker, K. Kirchoff, K. Toth, L. King, A. Bahret, B. Miller, M. Marra, R. Martienssen, W. R. McCombie, R. K. Wilson, G. Murphy, I. Bancroft, G. Volckaert, R. Warmbutt, A. Düsterhöft, W. Stiekema, T. Pohl, K.-D. Entian, N. Terryn, N. Hartley, E. Bent, S. Johnson, S.-A. Langham, B. McCullagh, J. Robben, B. Grymonprez, W. Zimmermann, U. Ramsperger, H. Wedler, K. Balke, E. Wedler, S. Peters, M. van Staveren, W. Dirkse, P. Mooijman, R. Klein Lankhorst, T. Weitzenegger, G. Bothe, M. Rose, J. Hauf, S. Berneiser, S. Hempel, M. Feldpausch, S. Lamberth, R. Villarroel, J. Gielen, W. Ardiles, O. Bents, K. Lemcke, G. Kolesov, K. Mayer, S. Rudd, H. Schoof, C. Schueller, P. Zaccaria, H. W. Mewes und M. Bevan: Sequence and analysis of chromosome 5 of the plant Arabidopsis thaliana, Nature 408, 823 - 826 (2000)

S. Talluri und G. Wagner: An Optimized 3D NOESY-HSQC, J. Magn. Reson. B112, 200 - 205 (1996)

D. A. Taylor, J. S. Sack, J. F. Maune, K. Beckingham und F. A. Quiocho: Structure of Recombinant Calmodulin from *Drosophila melanogaster* Refined at 2.2-Å Resolution, J. Biol. Chem. **266**, 21375 - 21380 (1991)

J. D. Thompson, T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin und D. G. Higgins: The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools, Nucl. Acids Res. **25**, 4876 - 4882 (1997)

R. Tinghino, B. Barletta, S. Palumbo, C. Afferni, P. Iacovacci, A. Mari, G. Di Felice und C. Pini: Molecular characterization of a cross-reactive *Juniperus oxycedrus* pollen allergen, Jun o 2: A novel calcium-binding allergen, J. Allergy Clin. Immunol. **101**, 772 - 777 (1998)

R. Tinghino, A. Twardosz, B. Barletta, E. M. R. Puggioni, P. Iacovacci, C. Butteroni, C. Afferni, A. Mari, B. Hayek, G. Di Felice, M. Focke, K. Westritschnig, R. Valenta und C. Pini: Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens, J. Allergy Clin. Immunol. **109**, 314 - 320 (2002)

N. Tjandra und A. Bax: Direct Measurement of Distances and Angles in Biomolecules by NMR in a Dilute Liquid Crystalline Medium, Science **278**, 1111 - 1114 (1997)

N. Tjandra, H. Kuboniwa, H. Ren und A. Bax: Rotational dynamics of calcium-free calmodulin studied by <sup>15</sup>N-NMR relaxation measurements, Eur. J. Biochem. **230**, 1014 - 1024 (1995)

N. Tjandra, S. Grzesiek und A. Bax: Magnetic Field Dependence of Nitrogen-Proton *J* Splittings in <sup>15</sup>N-Enriched Human Ubiquitin Resulting from Relaxation Interference and Residual Dipolar Coupling, J. Am. Chem. Soc. **118**, 6264 - 6272 (1996)

N. Tjandra, J. G. Omichinski, A. M. Gronenborn, G. M. Clore und A. Bax: Use of dipolar <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N and <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C couplings in the structure determination of magnetically oriented macromolecules in solution, Nature Struct. Biol. **4**, 731 - 738 (1997)

J. R. Tolman, J. M. Flanagan, M. A. Kennedy und J. H. Prestegard: Nuclear magnetic dipole interactions in field-oriented proteins: Information for structure determination in solution, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **92**, 9279 - 9283 (1995)

J. R. Tolman, J. M. Flanagan, M. A. Kennedy und J. H. Prestegard: NMR evidence for slow collective motions in cyanometmyoglobin, Nature Struct. Biol. 4, 292 - 297 (1997)

J. R. Tolman, H. M. Al-Hashimi, L. E. Kay und J. H. Prestegard: Structural and Dynamic Analysis of Residual Dipolar Couplings Data for Proteins, J. Am. Chem. Soc. **123**, 1416 - 1424 (2001)

K. Toriyama, T. Okada, M. Watanabe, T. Ide, T. Ashida, H. Xu und M. B. Singh: A cDNA clone encoding an IgE-binding protein from *Brassica* anther has significant sequence similarity to Ca<sup>2+</sup>-binding proteins, Plant Mol. Biol. **29**, 1157 - 1165 (1995)

J. M. Tremblay, G. M. Helmkamp Jr. und L. R. Yarbrough: Limited Proteolysis of Rat Phosphatidylinositol Transfer Protein by Trypsin Cleaves the C Terminus, Enhances Binding to Lipid Vesicles, and Reduces Phospholipid Transfer Activity, J. Biol. Chem. **271**, 21075 - 21080 (1996)

S. Tsuda, Y. Hasegawa, M. Yoshida, K. Yagi und K. Hikichi: Nuclear Magnetic Resonance Study on Rabbit Skeletal Troponin C: Calcium-Induced Conformational Change, Biochemistry **27**, 4120 - 4126 (1988)

Y. Tsujishita: Structural Genomics of Lipid Signaling Domains, Oncol. Res. 13, 421 - 428 (2003)

Y. Tsujishita und J. H. Hurley: Structure and lipid transport mechanism of a StAR-related domain, Nature Struct. Biol. 7, 408 - 414 (2000)

A. Twardosz, B. Hayek, S. Seiberler, L. Vangelista, L. Elfman, H. Grönlund, D. Kraft und R. Valenta: Molecular Characterization, Expression in *Escherichia coli*, and Epitope Analysis of a Two EF-Hand Calcium-Binding Birch Pollen Allergen, Bet v 4, Biochem. Biophys. Res. Comm. **239**, 197 - 204 (1997)

R. Valenta und D. Kraft: Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic diseases, Curr. Opin. Immunol. 7, 751 - 756 (1995)

R. Valenta, M. Duchêne, K. Pettenburger, C. Sillaber, P. Valent, P. Bettelheim, M. Breitenbach, H. Rumpold, D. Kraft und O. Scheiner: Identification of Profilin as a Novel Pollen Allergen; IgE Autoreactivity in Sensitized Individuals, Science **253**, 557 - 560 (1991)

R. Valenta, B. Hayek, S. Seiberler, A. Bugajska-Schretter, V. Niederberger, A. Twardosz, S. Natter, L. Vangelista, A. Pastore, S. Spitzauer und D. Kraft: Calcium-Binding Allergens: From Plants to Man, Int. Arch. Allergy Immunol. **117**, 160 - 166 (1998)

R. Valenta, S. Vrtala, M. Focke-Tejkl, A. Bugajska-Schretter, T. Ball, A. Twardosz, S. Spitzauer, H. Grönlund und D. Kraft: Genetically Engineered and Synthetic Allergen Derivatives: Candidates for Vaccination against Type I Allergy, Biol. Chem. **380**, 815 - 824 (1999)

U. van de Löcht, I. Meier, K. Hahlbrock und I. E. Somssich: A 125 bp promoter fragment is sufficient for strong elicitor-mediated gene activation in parsley, EMBO J. 9, 2945 - 2950 (1990)

F. J. M. van de Ven: Multidimensional NMR in Liquids, VCH, New York (1995)

M. Vanek-Krebitz, K. Hoffmann-Sommergruber, M. Laimer da Camaro Machado, M. Susani, C. Ebner, D. Kraft, O. Scheiner und H. Breiteneder: Cloning and sequencing of Mal d 1, the major allergen from apple (*Malus domestica*), and its immunological relationship to Bet v 1, the major birch pollen allergen, Biochem. Biophys. Res. Comm. **214**, 538 - 551 (1995)

K. E. van Holde, W. C. Johnson und P. S. Ho: Principles of Physical Biochemistry, Prentice Hall, Upper Saddle River (1998)

L. C. van Loon und E. A. van Strien: The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins, Phys. Mol. Plant Pathol. 55, 85 - 97 (1999)

L. C. van Loon, W. S. Pierpoint, T. Boller und V. Conejero: Recommendations for Naming Plant Pathogenesis-Related Proteins, Plant Mol. Biol. Rep. **12**, 245 - 264 (1994)

R. van Ree: Carbohydrate Epitopes and Their Relevance for the Diagnosis and Treatment of Allergic Diseases, Int. Arch. Allergy Immunol. **129**, 189 - 197 (2002)

P. C. M van Zijl, M. O'Neil Johnson, S. Mori und R. E. Hurds: Magic-Angle-Gradient Double-Quantum-Filtered COSY, J. Magn. Reson. **A113**, 265 - 270 (1995)

G. Varani, F. Aboul-ela, F. H.-T. Allain: NMR investigation of RNA structure, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. **29**, 51 - 127 (1996)

D. G. Vassylyev, S. Takeda, S. Wakatsuki, K. Maeda und Y. Maéda: Crystal structure of troponin C in complex with troponin I fragment at 2.3-Å resolution, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95**, 4847 - 4852 (1998)

P. Verdino, K. Westritschnig, R. Valenta und W. Keller: The cross-reactive calcium-binding pollen allergen, Phl p 7, reveals a novel dimer assembly, EMBO J. **21**, 5007 - 5016 (2002)

L. Verlet: Computer "Experiments" on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules, Phys. Rev. **159**, 98 - 103 (1967)

C. S. S. Vidya, M. Manoharan und G. L. Sita: Cloning and characterization of salicylic acidinduced, intracellular pathogenesis-related gene from tomato (*Lycopersicon esculentum*), J. Biosci. **24**, 287 - 293 (1999)

S. Vieths: Allergens in Fruits and Vegetables, in J. P. F. D'Mello (Hrsg.): Handbook of Plant and Fungal Toxicants, CRC Press, Boca Raton, S. 157 - 174 (1997)

S. Vieths, E. Frank, S. Scheurer, H. E. Meyer, G. Hrazdina und D. Haustein: Characterization of a New IgE-Binding 35-kDa Protein from Birch Pollen with Cross-Reacting Homologues in Various Plant Foods, Scand. J. Immunol. **47**, 263 - 272 (1998)

S. Vieths, S. Scheurer, J. Reindl, D. Lüttkopf, A. Wangorsch, M. Kästner, T. Haase und D. Haustein: Optimized allergen extracts and recombinant allergens in diagnostic applications, Allergy **56**, Suppl. 67, 78 - 82 (2001)

S. Vieths, S. Scheurer und B. Ballmer-Weber: Current Understanding of Cross-Reactivity of Food Allergens and Pollen, Ann. N. Y. Acad. Sci. **964**, 47 - 68 (2002a)

S. Vieths, A. Wangorsch, K. Fötisch, R. van Ree, B. Wüthrich und B. K. Ballmer-Weber: Carrot allergy: use of recombinant allergens to determine sensitization patterns and cross-reactivity, Allergy **57**, Suppl. 73, 28 (2002b)

G. Vriend und C. Sander: Quality Control of Protein Models: Directional Atomic Contact Analysis, J. Appl. Cryst. **26**, 47 - 60 (1993)

S. Vrtala, M. Grote, M. Duchêne, R. van Ree, D. Kraft, O. Scheiner und R. Valenta: Properties of Tree and Grass Pollen Allergens: Reinvestigation of the Linkage between Solubility and Allergenicity, Int. Arch. Allergy Immunol. **102**, 160 - 169 (1993)

G. W. Vuister und A. Bax: Resolution Enhancement and Spectral Editing of Uniformly <sup>13</sup>C-Enriched Proteins by Homonuclear Broadband <sup>13</sup>C Decoupling. J. Magn. Reson. **98**, 428 - 435 (1992)

G. W. Vuister und A. Bax: Quantitative J Correlation: A New Approach for Measuring Homonuclear Three-Bond J(HNH $\alpha$ ) Coupling Constants in <sup>15</sup>N-Enriched Proteins, J. Am. Chem. Soc. **115**, 7772 - 7777 (1993)

G. Wagner, W. Braun, T. F. Havel, T. Schaumann, N. Go und K. Wüthrich: Protein Structures in Solution by Nuclear Magnetic Resonance and Distance Geometry, J. Mol. Biol. **196**, 611 - 639 (1987)

M. E. Wall, J. B. Clarage und G. N. Phillips Jr.: Motions of calmodulin characterized using both Bragg and diffuse X-ray scattering, Structure **5**, 1599 - 1612 (1997)

A. C. Wallace, R. A. Laskowski und J. M. Thornton: LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions, Prot. Eng. **8**, 127 - 134 (1995)

M. H. Walter, J.-W. Liu, C. Grand, C. J. Lamb und D. Hess: Bean pathogenesis-related (PR) proteins deduced from elicitor-induced transcripts are members of a ubiquitous new class of conserved PR proteins including pollen allergens, Mol. Gen. Genet. **222**, 353 - 360 (1990)

M. H. Walter, J.-W. Liu, J. Wünn und D. Hess: Bean ribonuclease-like pathogenesis-related protein genes (*Ypr10*) display complex patterns of developmental, dark-induced and exogenous-stimulus-dependent expression, Eur. J. Biochem. **239**, 281 - 293 (1996)

K. J. Walters, A. E. Ferentz, B. J. Hare, P. Hidalgo, A. Jasanoff, H. Matsuo und G. Wagner: Characterizing Protein-Protein Complexes and Oligomers by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Meth. Enzymol. **339**, 238 - 258 (2001)

J. E. Walker, M. Saraste, M. J. Runswick und N. J. Gray: Distantly related sequences in the  $\alpha$ and  $\beta$ -subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold, EMBO J. **1**, 945 - 951 (1982)

C.-S. Wang, J.-C. Huang und J.-H. Hu: Characterization of two subclasses of PR-10 transcripts in lily anthers and induction of their genes through separate signal transduction pathways, Plant Mol. Biol. **40**, 807 - 814 (1999)

Y. Wang, X. Wang, A. L. Skirpan und T.-h. Kao: S-RNase-mediated self-incompatibility, J. Exp. Bot. **54**, 115 - 122 (2003)

Z.-Y. Wang, H. Seto, S. Fujioka, S. Yoshida und J. Chory: BRI1 is a critical component of a plasma-membrane receptor for plant steroids, Nature **410**, 380 - 383 (2001)

S. A. J. Warner, R. Scott und J. Draper: Characterisation of a wound-induced transcript from the monocot asparagus that shares similarity with a class of intracellular pathogenesis-related (PR) proteins, Plant Mol. Biol. **19**, 555 - 561 (1992)

S. A. J. Warner, R. Scott und J. Draper: Isolation of an asparagus intracellular PR gene (*AoPR1*) wound-responsive promoter by the inverse polymerase chain reaction and its characterization in transgenic tobacco, Plant J. **3**, 191 - 201 (1993)

S. A. J. Warner, A. Gill und J. Draper: The developmental expression of the asparagus intracellular PR protein (AoPR1) gene correlates with sites of phenylpropanoid biosynthesis, Plant J. 6, 31 - 43 (1994)

W. S. Warren, W. Richter, A. Hamilton Andreotti und B. T. Farmer II: Generation of Impossible Cross-Peaks Between Bulk Water and Biomolecules in Solution NMR, Science **262**, 2005 - 2009 (1993)

S. Westphal, K. Foetisch, W. Kempf, S. Vieths und S. Scheurer: Cloning, characterisation and allergenic activity of tomato profilin, Allergy **58**, Suppl. 74, 206 (2003)

S. S. Wijmenga, E. Steensma und C. P. M. van Mierlo: Doubly Sensitivity-Enhanced 3D HCCH-TOCSY of <sup>13</sup>C-Labeled Proteins in H<sub>2</sub>O Using Heteronuclear Cross Polarization and Pulsed Field Gradients, J. Magn. Reson. **124**, 459 - 467 (1997)

D. K. Wilkins, S. B. Grimshaw, V. Receveur, C. M. Dobson, J. A. Jones und L. J. Smith: Hydrodynamic Radii of Native and Denatured Proteins Measured by Pulse Field Gradient NMR Techniques, Biochemistry **38**, 16424 - 16431 (1999)

M. Wills-Karp, J. Santeliz und C. L. Karp: The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis, Nature Immunol. **1**, 69 - 75 (2001)

M. A. Wilson und A. T. Brünger: The 1.0 Å Crystal Structure of Ca<sup>2+</sup>-bound Calmodulin: an Analysis of Disorder and Implications for Functionally Relevant Plasticity, J. Mol. Biol. **301**, 1237 - 1256 (2000)

D. S. Wishart und D. A. Case: Use of Chemical Shifts in Macromolecular Structure Determination, Meth. Enzymol. **338**, 3 - 34 (2001)

D. S. Wishart und B. D. Sykes: Chemical Shifts as a Tool for Structure Determination, Meth. Enzymol. **239**, 363 - 392 (1994)

D. S. Wishart, C. G. Bigam, A. Holm, R. S. Hodges und B. D. Sykes: <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N random coil NMR chemical shifts of the common amino acids. I. Investigations of nearest-neighbor effects, J. Biomol. NMR **5**, 67 - 81 (1995)

M. Wittekind und L. Mueller: HNCACB, a High-Sensitivity 3D NMR Experiment to Correlate Amide-Proton and Nitrogen Resonances with the Alpha- and Beta-Carbon Resonances in Proteins, J. Magn. Reson. **B101**, 201 - 205 (1993)

D. E. Woessner: Nuclear Spin Relaxation in Ellipsoids Undergoing Rotational Brownian Motion, J. Chem. Phys. **37**, 647 - 654 (1962)

F. Wu, Y. Li, S. Chang, Z. Zhou, F. Wang, X. Song, Y. Lin und W. Gong: Purification, characterization and preliminary crystallographic studies of a PR-10 protein from *Pachyrrhizus erosus* seeds, Acta Cryst. **D58**, 2165 - 2167 (2002)

K. Wüthrich: NMR of Proteins and Nucleic Acids, Wiley, New York (1986)

M. Yamamoto, S. Torikai und K. Oeda: A Major Root Protein of Carrots with High Homology to Intracellular Pathogenesis-Related (PR) Proteins and Pollen Allergens, Plant Cell. Physiol. **38**, 1080 - 1086 (1997)

E. Yamauchi, T. Nakatsu, M. Matsubara, H. Kato und H. Taniguchi: Crystal structure of a MARCKS peptide containing the calmodulin-binding domain in complex with  $Ca^{2+}$ -calmodulin, Nature Struct. Biol. **10**, 226 - 231 (2003)

K. L. Yap, J. B. Ames, M. B. Swindells und M. Ikura: Diversity of Conformational States and Changes Within the EF-Hand Protein Superfamily, Proteins **37**, 499 - 507 (1999)

M. D. Yoder, L. M. Thomas, J. M. Tremblay, R. L. Oliver, L. R. Yarbrough und G. M. Helmkamp Jr.: Structure of a Multifunctional Protein. Mammalian Phosphatidylinositol Transfer Protein Complexed with Phosphatidylcholine, J. Biol. Chem. **276**, 9246 - 9252 (2001)

M. Zhang, T. Tanaka und M. Ikura: Calcium-induced conformational transition revealed by the solution structure of apo calmodulin, Nature Struct. Biol. **2**, 758 - 767 (1995)

O. Zhang, L. E. Kay, J. P. Olivier und J. D. Forman-Kay: Backbone <sup>1</sup>H and <sup>15</sup>N resonance assignments of the N-terminal SH3 domain of drk in folded and unfolded states using enhanced-sensitivity pulsed field gradient NMR techniques, J. Biomol. NMR **4**, 845 - 858 (1994)

W. Zhang, T. E. Smithgall und W. H. Gmeiner: Three-dimensional structure of the Hck SH2 domain in solution, J. Biomol. NMR **10**, 263 - 272 (1997)

G. Zhu und A. Bax: Improved Linear Prediction for Truncated Signals of Known Phase, J. Magn. Reson. **90**, 405 - 410 (1990)

S. Ziadi, P. Poupard, M.-N. Brisset, J.-P. Paulin und P. Simoneau: Characterization in apple leaves of two subclasses of PR-10 transcripts inducible by acibenzolar-S-methyl, a functional analogue of salicylic acid, Physiol. Mol. Plant Pathol. **59**, 33 - 43 (2001)

M. Zweckstetter und A. Bax: Prediction of Sterically Induced Alignment in a Dilute Liquid Crystalline Phase: Aid to Protein Structure Determination by NMR, J. Am. Chem. Soc. 122, 3791 - 3792 (2000)

M. Zweckstetter und A. Bax: Characterization of molecular alignment in aqueous suspensions of Pf1 bateriophage, J. Biomol. NMR **20**, 365 - 377 (2001)

M. Zweckstetter und A. Bax: Evaluation of uncertainty in alignment tensors obtained from dipolar couplings, J. Biomol. NMR 23, 127 - 137 (2002)

## 10. Anhang

## 10.1 Chemische Verschiebungen

Die zugeordneten chemischen Verschiebungen sind im Format der BioMagResBank angegeben.

## 10.1.1 Chemische Verschiebungen von Pru av 1 E45W

1	1	GLY	HA2	Н	4.03	0.02	2	2	1	GLY	HA3	Н	3.80	0.02	2
3	1	GLY	С	С	172.85	0.20	1	4	1	GLY	CA	С	45.45	0.20	1
5	2	VAL	Н	Η	7.40	0.02	1	6	2	VAL	HA	Η	4.80	0.02	1
7	2	VAL	HB	Η	1.59	0.02	1	8	2	VAL	HG1	Η	0.38	0.02	2
9	2	VAL	HG2	Η	0.35	0.02	2	10	2	VAL	С	С	175.05	0.20	1
11	2	VAL	CA	С	60.67	0.20	1	12	2	VAL	CB	С	33.48	0.20	1
13	2	VAL	CG1	С	21.03	0.20	2	14	2	VAL	CG2	С	20.50	0.20	2
15	2	VAL	Ν	Ν	120.48	0.20	1	16	3	PHE	Н	н	8.77	0.02	1
17	3	PHE	HA	н	4.71	0.02	1	18	3	PHE	HB2	Н	3.09	0.02	2
19	3	PHE	HB3	Н	2.88	0.02	2	20	3	PHE	HD1	н	7.22	0.02	1
21	3	PHE	HD2	н	7.22	0.02	1	22	3	PHE	HE1	н	7.34	0.02	1
23	2	DHF	HF 2	н	7 34	0 02	1	24	3	DHF	C	C	174 33	0 20	1
25	3		CN	C	57 07	0.02	1	21	3	DUF	CP	c	41 92	0.20	1
23	2		N	N	128 00	0.20	1	20	4	TUD	U U	ц	8 37	0.20	1
20	1	TUD	117	11	120.00 E 20	0.20	1	20			UD	и П	2 62	0.02	1
29	4	тир		п	0.96	0.02	1	30	4	TIR	С	С	172 21	0.02	1
22	4		ngz az	п	62.46	0.02	1	24	4		d D	ä	70 02	0.20	1
22	4	THR	CA CA2	d	02.40	0.20	1	24	4	THR	CB N	C N	10.92	0.20	1
22	4	THK	CG2	C	22.20	0.20	1	30	4	THR	IN	IN	123.32	0.20	1
3/	5	TYR	H	Н	9.01	0.02	T	38	5	TYR	HA	H	4.71	0.02	Ţ
39	5	TYR	HBZ	н	3.06	0.02	2	40	5	TYR	HB3	н	2./1	0.02	2
41	5	TYR	HDI	Н	7.07	0.02	T	42	5	TYR	HD2	н	7.07	0.02	T
43	5	TYR	HEI	н	6.52	0.02	1	44	5	TYR	HE2	н	6.52	0.02	T
45	5	TYR	C	C	174.46	0.20	T	46	5	TYR	CA	C	57.15	0.20	T
47	5	TYR	CB	С	41.85	0.20	1	48	5	TYR	Ν	Ν	125.69	0.20	1
49	6	GLU	Н	Η	8.74	0.02	1	50	6	GLU	HA	н	5.23	0.02	1
51	6	GLU	HB2	Η	1.99	0.02	2	52	6	GLU	HB3	Н	1.86	0.02	2
53	6	GLU	HG2	Η	2.12	0.02	1	54	6	GLU	HG3	Н	2.12	0.02	1
55	6	GLU	С	С	175.63	0.20	1	56	6	GLU	CA	С	55.20	0.20	1
57	6	GLU	CB	С	32.84	0.20	1	58	б	GLU	CG	С	36.42	0.20	1
59	б	GLU	Ν	Ν	124.55	0.20	1	60	7	SER	H	Н	8.91	0.02	1
61	7	SER	HA	Η	4.70	0.02	1	62	7	SER	HB2	н	3.65	0.02	1
63	7	SER	HB3	Η	3.65	0.02	1	64	7	SER	С	С	176.05	0.20	1
65	7	SER	CA	С	57.62	0.20	1	66	7	SER	CB	С	66.55	0.20	1
67	7	SER	Ν	Ν	117.35	0.20	1	68	8	GLU	Н	н	8.22	0.02	1
69	8	GLU	HA	Η	5.41	0.02	1	70	8	GLU	HB2	н	1.78	0.02	1
71	8	GLU	HB3	Н	1.78	0.02	1	72	8	GLU	HG2	Н	2.02	0.02	2
73	8	GLU	HG3	Н	1.94	0.02	2	74	8	GLU	С	С	174.67	0.20	1
75	8	GLU	CA	С	54.74	0.20	1	76	8	GLU	CB	C	33.54	0.20	1
77	8	GLU	CG	Ċ	37.07	0.20	1	78	8	GLU	N	N	122.26	0.20	1
79	9	PHE	H	Ĥ	8.67	0.02	1	80	9	PHE	HA	н	5.03	0.02	1
81	9	PHE	HB2	н	3.16	0.02	2	82	9	PHE	HB3	н	2.64	0.02	2
83	9	PHE	HD1	н	6.98	0.02	1	84	9	PHE	HD2	н	6.98	0.02	1
85	9	PHE	HE1	н	7 07	0 02	1	86	9	PHE	HE2	н	7 07	0 02	1
87	9	PHE	C	Ċ	173 94	0 20	1	88	9	PHE	CA	Ĉ	55 16	0.02	1
89	9	PHE	CB	č	41 18	0 20	1	90	9	PHE	N	N	122 18	0 20	1
91	10	THR	н	н	8 43	0 02	1	92	10	THR	НД	н	5 03	0.02	1
93	10	THR	HR	н	4 15	0 02	1	94	10	THR	HG2	н	1 14	0 02	1
95	10	THR	C	Ċ	173 37	0.02	1	96	10	THR	CD	C	60 68	0.02	1
97	10	THR	CB	c	71 32	0.20	1	98	10	THR	CG2	Ċ	21 66	0.20	1
99	10	THR	N	N	112 36	0.20	1	100	11	SED	н	ਮ	8 61	0.02	1
101	11	SEB	ЧΔ	н	4 90	0.20	1	102	11	SEB	нв2	н	3 72	0.02	2
102	11	CLD	11A 11A	u II	2 21	0.02	2	104	11	CED	UC	и Ц	6 75	0.02	1
105	11	CLD	C	с П	175 44	0.02	1	104	11	CLD	CN	C	56 06	0.02	1
107	11	CED	CD	c	66 17	0.20	1	100	11	CED	N	N	11/ 20	0.20	1
100	12	CTI	ч	U U	00.17	0.20	1	100	12	CIII	TI V IN	11	1 20	0.20	1
111	10	GLU		п	9.30	0.02	2	110	10	CLU		п 11	1 01	0.02	- - -
112	12	GLU		п	2.15	0.02	1	114	12	GLU	102	п	1.01	0.02	1
115	12	GLU	HGZ	н	2.20	0.02	1	114	10	GLU	HG3	н	2.20	0.02	1
115	12	GLU	C	C	1/5.93	0.20	1	110	12	GLU	CA	C	57.40	0.20	1
110	12	GLU	CB	C	30.51	0.20	1	118	12	GLU	ĊĠ	C	36.78	0.20	1
119	12	GLU	N	N	127.45	0.20	T	120	13	115	H	Н	8.49	0.02	T
121	13	ILE	HA	H	4.42	0.02	T	122	13	ILE	HB	Н	2.15	0.02	T
123	13	TTE TTE	HG12	H	1.65	0.02	2	124	13	TTE TTE	HG13	H	1.27	0.02	2
125	13	ILE	HG2	H	1.09	0.02	1	126	13	ILE	HD1	H	0.75	0.02	1
127	13	ILE	CA	C	56.48	0.20	1	128	13	ILE	CB	С	36.68	0.20	1
129	13	ILE	CG1	С	26.71	0.20	1	130	13	ILE	CG2	С	17.39	0.20	1
131	13	ILE	CD1	С	9.38	0.20	1	132	13	ILE	Ν	Ν	122.31	0.20	1
133	16	PRO	HA	Η	3.96	0.02	1	134	16	PRO	HB2	Η	2.42	0.02	2
135	16	PRO	HB3	Η	1.91	0.02	2	136	16	PRO	HG2	Η	2.05	0.02	1
137	16	PRO	HG3	Н	2.05	0.02	1	138	16	PRO	HD2	Η	3.41	0.02	2

RO         HD3         H $3.29$ RO         CA         C $66.57$ RO         CG         C $28.22$ RG         HB2         H         1.81           RG         HB2         H         1.81           RG         HB2         H         1.42           RG         HD2         H $3.27$ RG         HE         H $6.75$ RG         CA         C $58.94$ RG         CZ         C $159.56$ RG         N         N $85.48$ EU         HA         H $3.82$ EU         HB3         H $1.25$ EU         HD1         H $0.83$ EU         CD1         C $23.50$ EU         CD1         C $23.50$ EU         N         N $118.12$ HE         HA $3.01$ $7.18$ HE         HD2         H $7.13$ HE         HD2         H $7.13$ <
0.02         2         192         20         LYS           0.02         1         194         20         LYS           0.02         1         196         20         LYS           0.02         1         196         20         LYS           0.02         1         198         20         LYS           0.20         1         200         20         LYS
0.20         1         202           0.20         1         204           0.02         1         206           0.20         1         208
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
0.20         1         230           0.20         2         232           0.20         2         234           0.02         1         234
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
0.02         1         248           0.02         2         250           0.20         1         252           0.20         1         254
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
0.20         1         266           0.20         1         268           0.02         1         270           0.02         2         272
0.02 1 276 0.20 1 276 0.20 1 278 0.20 1 280 0.02 1 282
0.02         2         284           0.02         2         286           0.20         1         288           0.20         1         290
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
0.20         2         302           0.20         1         304           0.02         2         306           0.02         1         308
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{c} 1.32\\ 178.15\\ 32.95\\ 7.41\\ 1.86\\ 1.05\\ 0.47\\ 39.55\\ 18.33\\ 111.38\end{array}$	НССНННССN	HG2 C CB H HG13 HD1 CB CG2 N	LYS LYS LYS ILE ILE ILE ILE ILE	32 32 33 33 33 33 33 33 33 33 33 33	320 322 324 326 328 330 332 334 336 338		2 1 1 2 1 1 1 1	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	32       LYS       HB3       H       1.53       0.02       2         32       LYS       HG3       H       1.32       0.02       1         32       LYS       CA       C       58.04       0.20       1         32       LYS       N       N       112.26       0.20       1         33       ILE       HA       H       4.34       0.02       1         33       ILE       HG12       H       1.19       0.02       2         33       ILE       HG2       H       0.57       0.02       1         33       ILE       CA       C       61.50       0.20       1         33       ILE       CG1       C       25.60       0.20       1         33       ILE       CG1       C       14.14       0.20       1         33       ILE       CD1       C       14.14       0.20       1
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	50.65 124.96 2.41 1.92 3.60	C N H H	CA N HB2 HG2 HD2	ALA ALA PRO PRO PRO		34 34 35 35 35	342 34 344 34 346 35 348 35 350 35	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	ALA         HB         H         1.15         0.02         1         342         34           ALA         CB         C         19.21         0.20         1         344         34           PRO         HA         H         4.62         0.02         1         346         35           PRO         HB3         H         1.94         0.02         2         348         35           PRO         HG3         H         1.92         0.02         1         350         35	34         ALA         HB         H         1.15         0.02         1         342         34           34         ALA         CB         C         19.21         0.20         1         344         34           35         PRO         HA         H         4.62         0.02         1         346         35           35         PRO         HB3         H         1.94         0.02         2         348         35           35         PRO         HG3         H         1.92         0.02         1         350         35
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	177.47 31.42 50.32	C C C	C CB CD	PRO PRO PRO		35 35 35	352 35 354 35 356 35	2 352 35 1 354 35 1 356 35	0.02 2 352 35 0.20 1 354 35 0.20 1 356 35 0.20 1 356 35	3.26         0.02         2         352         35           64.28         0.20         1         354         35           27.17         0.20         1         356         35	H 3.26 0.02 2 352 35 C 64.28 0.20 1 354 35 C 27.17 0.20 1 356 35	HD3 H 3.26 0.02 2 352 35 CA C 64.28 0.20 1 354 35 CG C 27.17 0.20 1 356 35 U U C 4 0.00 1 356 35	PRO         HD3         H         3.26         0.02         2         352         35           PRO         CA         C         64.28         0.20         1         354         35           PRO         CG         C         27.17         0.20         1         356         35           OIN         U         U         0.20         1         356         35	35         PRO         HD3         H         3.26         0.02         2         352         35           35         PRO         CA         C         64.28         0.20         1         354         35           35         PRO         CG         C         27.17         0.20         1         356         356           36         PRO         CG         C         27.17         0.20         1         356         356
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	1.96 2.25 6.90	н Н Н	HB3 HG3 HE22	GLN GLN GLN	5 5 6 6	30	360 36 362 31 364 31	2 360 36 2 362 30 2 364 30	0.02 1 358 36 0.02 2 360 36 0.02 2 362 30 0.02 2 364 30	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	H 2.03 0.02 2 360 36 H 2.42 0.02 2 362 31 H 7.55 0.02 2 364 30	H         H         0.04         0.02         1         556         56           HB2         H         2.03         0.02         2         360         36           HG2         H         2.42         0.02         2         362         31           HE21         H         7.55         0.02         2         364         31	GLN         H         H         0.04         0.02         1         350         360           GLN         HB2         H         2.03         0.02         2         360         36           GLN         HG2         H         2.42         0.02         362         31           GLN         HG2         H         2.42         0.02         362         31           GLN         HG2         H         2.42         0.02         364         31	36         GLN         H         H         8.64         0.02         1         356         36           36         GLN         HB2         H         2.03         0.02         2         360         36           36         GLN         HG2         H         2.42         0.02         2         362         31           36         GLN         HE21         H         7.55         0.02         2         364         364
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	57.20 33.47	C C N	CA CG NE2	GLN GLN GLN	36 36 36		366 368 370	1 366 1 368 1 370	0.20 1 366 0.20 1 368 0.20 1 370	175.97         0.20         1         366           27.52         0.20         1         368           115.89         0.20         1         370	C 175.97 0.20 1 366 C 27.52 0.20 1 368 N 115.89 0.20 1 370	C C 175.97 0.20 1 366 CB C 27.52 0.20 1 368 N N 115.89 0.20 1 370	GLN         IIIIIII         7.59         0.20         1         366         366         366         368         368         370         370	36         GLN         C         C         175.97         0.20         1         366           36         GLN         CB         C         27.52         0.20         1         368           36         GLN         CB         C         27.52         0.20         1         368           36         GLN         N         N         115.89         0.20         1         370
29       0.02       1         57       0.20       1         50       0.20       1	4.29 53.67 123.60	H C N	HA CA N	ALA ALA ALA	37 37 37		372 374 376	1 372 1 374 1 376	0.02 1 372 0.02 1 374 0.20 1 376	8.030.0213721.340.02137419.530.201376	H 8.03 0.02 1 372 H 1.34 0.02 1 374 C 19.53 0.20 1 376	H         H         8.03         0.02         1         372           HB         H         1.34         0.02         1         374           CB         C         19.53         0.20         1         376	ALA         H         H         8.03         0.02         1         372           ALA         HB         H         1.34         0.02         1         374           ALA         CB         C         19.53         0.20         1         376	37         ALA         H         8.03         0.02         1         372           37         ALA         HB         H         1.34         0.02         1         374           37         ALA         CB         C         19.53         0.20         1         376
)3 0.02 1 31 0.02 2 51 0.02 1	4.03 1.31 0.61	H H H	HA HG12 HG2	ILE ILE ILE	38 38 38		378 380 382	1 378 1 380 2 382	0.02 1 378 0.02 1 380 0.02 2 382	7.370.0213781.470.0213800.920.022382	H 7.37 0.02 1 378 H 1.47 0.02 1 380 H 0.92 0.02 2 382	H         H         7.37         0.02         1         378           HB         H         1.47         0.02         1         380           HG13         H         0.92         0.02         2         382	ILE         H         H         7.37         0.02         1         378           ILE         HB         H         1.47         0.02         1         380           ILE         HG13         H         0.92         0.02         2         382	38         ILE         H         7.37         0.02         1         378           38         ILE         HB         H         1.47         0.02         1         380           38         ILE         HG13         H         0.92         0.02         2         382
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	173.04 41.40 17.00	C C C	C CB CG2	ILE ILE ILE	38 38 38		384 386 388	1 384 1 386 1 388	0.02 1 384 0.20 1 386 0.20 1 388 0.20 1 388	0.66         0.02         1         384           61.85         0.20         1         386           27.26         0.20         1         388	H 0.66 0.02 1 384 C 61.85 0.20 1 386 C 27.26 0.20 1 386	HDI         H         0.66         0.02         1         384           CA         C         61.85         0.20         1         386           CG1         C         27.26         0.20         1         388           CD1         C         20.00         1         388	ILE         HDI         H         0.66         0.02         I         384           ILE         CA         C         61.85         0.20         1         386           ILE         CG1         C         27.26         0.20         1         388           ILE         CG1         C         10.00         0.20         1         388	38         ILE         HD1         H         0.66         0.02         I         384           38         ILE         CA         C         61.85         0.20         1         386           38         ILE         CG1         C         27.26         0.20         1         388           38         ILE         CG1         C         27.26         0.20         1         388
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	4.41	H H H	HA HB3 HC3	LYS LYS	30 39 39 39		390 392 394 396	1 390 1 392 2 394	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	12.92         0.20         1         390           8.76         0.02         1         392           1.69         0.02         2         394           1.24         0.02         1         396	H 8.76 0.02 1 390 H 1.69 0.02 2 394 H 1.24 0.02 1 396	H         H         8.76         0.02         1         390           HB2         H         1.69         0.02         2         394           HG2         H         1.40         0.02         1         396	LYS         H         H         8.76         0.02         1         392           LYS         HB2         H         1.69         0.02         2         394           LYS         HB2         H         1.29         0.02         394	36         ILE         CDI         C         12.92         0.20         1         390           39         LYS         H         H         8.76         0.02         1         392           39         LYS         HB2         H         1.69         0.02         2         394           39         LYS         HB2         H         1.24         0.02         1         396
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	2.92 57.10 24.86	H C C	HE3 CA CG	LYS LYS LYS	39 39 39		398 400 402	1 398 1 400 1 402	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	2.92         0.02         1         398           176.60         0.20         1         400           34.01         0.20         1         402	H 2.92 0.02 1 398 C 176.60 0.20 1 400 C 34.01 0.20 1 402	HE2 H 2.92 0.02 1 398 C C 176.60 0.20 1 400 CB C 34.01 0.20 1 402	LYS         HE2         H         2.92         0.02         1         398           LYS         C         C         176.60         0.20         1         400           LYS         CB         C         34.01         0.20         1         402	39         LYS         HE2         H         2.92         0.02         1         398           39         LYS         C         C         176.60         0.20         1         400           39         LYS         C         C         176.60         0.20         1         400           39         LYS         C         C         34.01         0.20         1         402
37 0.20 1 55 0.02 1 99 0.02 2	125.37 4.65 2.99	N H H	N HA HB3	LYS HIS HIS	39 40 40		404 406 408	1 404 1 406 2 408	0.20 1 404 0.02 1 406 0.02 2 408	29.90         0.20         1         404           7.64         0.02         1         406           3.03         0.02         2         408	C 29.90 0.20 1 404 H 7.64 0.02 1 406 H 3.03 0.02 2 408	CD C 29.90 0.20 1 404 H H 7.64 0.02 1 406 HB2 H 3.03 0.02 2 408	LYS         CD         C         29.90         0.20         1         404           HIS         H         H         7.64         0.02         1         406           HIS         HB2         H         3.03         0.02         2         408	39         LYS         CD         C         29.90         0.20         1         404           40         HIS         H         H         7.64         0.02         1         406           40         HIS         HB2         H         3.03         0.02         2         408
56 0.02 1 77 0.20 1 36 0.20 1	7.66 55.77 114.86	H C N	HE1 CA N	HIS HIS HIS	40 40 40		410 412 414	1 410 1 412 1 414	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	H         6.86         0.02         1         410           C         172.42         0.20         1         412           C         33.23         0.20         1         414	HD2 H 6.86 0.02 1 410 C C 172.42 0.20 1 412 CB C 33.23 0.20 1 414	HIS         HD2         H         6.86         0.02         1         410           HIS         C         C         172.42         0.20         1         412           HIS         CB         C         33.23         0.20         1         414	40         HIS         HD2         H         6.86         0.02         1         410           40         HIS         C         C         172.42         0.20         1         412           40         HIS         CB         C         33.23         0.20         1         414
1 0.02 1 32 0.02 2 36 0.20 1	5.11 3.32 56.36	H H C	HA HB3 CA	SER SER SER	41 41 41		416 418 420	1 416 2 418 1 420	0.02 1 416 0.02 2 418 0.20 1 420	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	H7.900.021416H3.460.022418C172.580.201420	H         H         7.90         0.02         1         416           HB2         H         3.46         0.02         2         418           C         C         172.58         0.20         1         420	SER         H         H         7.90         0.02         1         416           SER         HB2         H         3.46         0.02         2         418           SER         C         C         172.58         0.20         1         420	41         SER         H         H         7.90         0.02         1         416           41         SER         HB2         H         3.46         0.02         2         418           41         SER         C         C         172.58         0.20         1         420
.8 0.20 1 59 0.02 1 38 0.02 2	$     \begin{array}{r}       118.18 \\       4.59 \\       1.88 \\     \end{array} $	N H H	N HA HB3	SER GLU GLU	41 42 42		422 424 426	1 422 1 424 2 426	0.20 1 422 0.02 1 424 0.02 2 426	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C         64.77         0.20         1         422           H         8.57         0.02         1         424           H         2.04         0.02         2         426	CB         C         64.77         0.20         1         422           H         H         8.57         0.02         1         424           HB2         H         2.04         0.02         2         426	SER         CB         C         64.77         0.20         1         422           GLU         H         H         8.57         0.02         1         424           GLU         HB2         H         2.04         0.02         2         426	41         SER         CB         C         64.77         0.20         1         422           42         GLU         H         H         8.57         0.02         1         424           42         GLU         HB2         H         2.04         0.02         2         426
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	54.30 35.92 8.84	C C H	CA CG H	GLU GLU ILE	42 42 43		428 430 432	1 428 1 430 1 432	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	174.73     0.20     1     428       33.88     0.20     1     430       123.77     0.20     1     432       4.02     0.02     1     434	C         174.73         0.20         1         428           C         33.88         0.20         1         430           N         123.77         0.20         1         432           U         4.02         0.02         1         434	C         C         1/4.73         0.20         1         428           CB         C         33.88         0.20         1         430           N         N         123.77         0.20         1         432           U2         U         4.02         0.02         1         432	GLU         C         C         174.73         0.20         1         428         428         428         428         428         430         430         430         430         430         430         432         432         432         434	42       GLU       C       C       1/4.73       0.20       1       428         42       GLU       CB       C       33.88       0.20       1       430         42       GLU       N       N       123.77       0.20       1       432         42       GLU       N       N       123.77       0.20       1       432         43       UE       UE       UE       4.23       0.02       1       432
50 0.02 1 50 0.02 1 70 0.02 1 10 0.20 1	1.70 1.60 0.70 62.10	н Н С	HG13 HD1 CA	ILE ILE ILE	43 43 43 43		434 436 438 440	1 434 1 436 1 438 1 440	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	H 1.60 0.02 1 436 H 0.69 0.02 1 438 C 176.26 0.20 1 440	HG12 H 1.60 0.02 1 436 HG2 H 0.69 0.02 1 438 C C 176.26 0.20 1 440	ILE         HA         H         4.05         0.02         1         434           ILE         HG12         H         1.60         0.02         1         436           ILE         HG2         H         0.69         0.02         1         436           ILE         HG2         H         0.69         0.02         1         438           ILE         C         C         176.26         0.20         1         440	43       ILE       HA       H       4.05       0.02       1       434         43       ILE       HG12       H       1.60       0.02       1       436         43       ILE       HG2       H       0.69       0.02       1       438         43       ILE       C       C       176.26       0.20       1       440
76 0.20 1 30 0.20 1 13 0.02 1	28.76 11.80 9.13	C C H	CG1 CD1 H	ILE ILE LEU	43 43 44		442 444 446	$\begin{array}{cccc} 1 & & 442 \\ 1 & & 444 \\ 1 & & 446 \end{array}$	0.20 1 442 0.20 1 444 0.20 1 446	37.740.20144218.090.201444125.180.201446	C37.740.201442C18.090.201444N125.180.201446	CB         C         37.74         0.20         1         442           CG2         C         18.09         0.20         1         444           N         N         125.18         0.20         1         446	ILE         CB         C         37.74         0.20         1         442           ILE         CG2         C         18.09         0.20         1         444           ILE         N         N         125.18         0.20         1         446	43         ILE         CB         C         37.74         0.20         1         442           43         ILE         CG2         C         18.09         0.20         1         444           43         ILE         N         N         125.18         0.20         1         446
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	1.60 177.23 42.56 7.78	H C C	HB2 C CB	LEU LEU LEU	44 44 44		448 450 452	1 448 1 450 1 452	0.02 1 448 0.02 1 450 0.20 1 452 0.20 1 452	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	H 4.41 0.02 1 448 H 1.60 0.02 1 450 C 55.88 0.20 1 452	HA H 4.41 0.02 1 448 HB3 H 1.60 0.02 1 450 CA C 55.88 0.20 1 452	LEU HA H 4.41 0.02 1 448 LEU HB3 H 1.60 0.02 1 450 LEU CA C 55.88 0.20 1 452	44         LEU         HA         H         4.41         0.02         1         448           44         LEU         HB3         H         1.60         0.02         1         450           44         LEU         HB3         H         1.60         0.02         1         450           44         LEU         CA         C         55.88         0.20         1         452           44         LEU         N         N         120         14         0.20         1         452
0.02 2 39 0.02 2 37 0.02 1 56 0.02 1	3.39 7.37 7.66	H H H	HB2 HD1 HE3	TRP TRP TRP	45 45 45		456 458 460	1 456 2 458 1 460	0.02 1 456 0.02 2 458 0.02 1 460	4.55     0.02     1     456       2.96     0.02     2     458       10.13     0.02     1     460	H 4.55 0.02 1 456 H 2.96 0.02 2 458 H 10.13 0.02 1 460	HA         H         4.55         0.02         1         456           HB3         H         2.96         0.02         2         458           HE1         H         10.13         0.02         1         460	TRP         HA         H         4.55         0.02         1         456           TRP         HB3         H         2.96         0.02         2         458           TRP         HE1         H         10.13         0.02         1         460	45       TRP HA       H       4.55       0.02       1       456         45       TRP HB3       H       2.96       0.02       2       458         45       TRP HE1       H       10.13       0.02       1       460
0.02 1 0.02 1 0.20 1 0.02 1	7.09 119.59 7.65	H N H	HZ3 N H	TRP TRP GLY	45 45 46		462 464 466	1 462 1 464 1 466	0.02 1 462 0.02 1 464 0.20 1 466	7.490.0214627.240.021464129.630.201466	H7.490.021462H7.240.021464N129.630.201466	HZ2         H         7.49         0.02         1         462           HH2         H         7.24         0.02         1         464           NE1         N         129.63         0.20         1         466	TRP         HZ2         H         7.49         0.02         1         462           TRP         HH2         H         7.24         0.02         1         464           TRP         NE1         N         129.63         0.20         1         466	45         TRP         HZ2         H         7.49         0.02         1         462           45         TRP         HH2         H         7.24         0.02         1         464           45         TRP         NE1         N         129.63         0.20         1         466
0.02 2 55 0.02 1 97 0.02 2 5 0 20 1	3.01 7.65 2.97	H H H N	HA3 H HB2 N	GLY ASP ASP ASP	46 47 47 47		468 470 472 474	2 468 1 470 1 472 2 474	0.02         2         468           0.20         1         470           0.02         1         472           0.02         2         474	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	H       4.41 $0.02$ 2       408         N       113.62 $0.20$ 1       470         H       4.61 $0.02$ 1       472 $\mu$ 2.41 $0.02$ 2       474	HA2         H         4.41 $0.02$ 2 $408$ N         N         113.62 $0.20$ 1         470           HA         H         4.61 $0.02$ 1         472           HP2         H         2.41 $0.02$ 2         474	GLY         HA2         H         4.41         0.02         2         458           GLY         N         N         113.62         0.20         1         470           ASP         HA         H         4.61         0.02         1         472           ASP         HB3         H         2.41         0.02         2         474	46         GLY         HA2         H         4.41         0.02         2         468           46         GLY         N         N         113.62         0.20         1         470           47         ASP         HA         H         4.61         0.02         1         472           47         ASP         HB3         H         2         41         0.02         2         474
54 0.02 2 56 0.20 1 46 0.02 2	4.64 110.66 4.46	H N H	HA2 N HA2	GLY GLY GLY	48 48 49		476 478 480	1 476 2 478 1 480	0.02 1 476 0.02 2 478 0.02 1 480	2.41         0.02         1         1/1           8.68         0.02         1         476           3.39         0.02         2         478           8.25         0.02         1         480	H         2.51         0.02         2         171           H         8.68         0.02         1         476           H         3.39         0.02         2         478           H         8.25         0.02         1         480	HB3     H     2.11     0.02     2     171       H     H     8.68     0.02     1     476       HA3     H     3.39     0.02     2     478       H     H     8.25     0.02     1     480	ASP         IBS         II         2.11         0.02         2         171           GLY         H         H         8.68         0.02         1         476           GLY         HA3         H         3.39         0.02         2         478           GLY         H         H         8.25         0.02         1         480	47       ASE       HDS       H       2.11       0.02       2       171         48       GLY       H       H       8.68       0.02       1       476         48       GLY       HA3       H       3.39       0.02       2       478         49       GLY       H       H       8.25       0.02       1       480
54     0.20     1       95     0.02     1       95     0.02     2       96     0.02     1	43.54 3.95 1.95	C H H	CA HA HB3	GLY PRO PRO	49 50 50		482 484 486	2 482 1 484 2 486	0.02 2 482 0.20 1 484 0.02 2 486	4.00         0.02         2         482           106.83         0.20         1         484           2.32         0.02         2         486	H         4.00         0.02         2         482           N         106.83         0.20         1         484           H         2.32         0.02         2         486	HA3         H         4.00         0.02         2         482           N         N         106.83         0.20         1         484           HB2         H         2.32         0.02         2         486	GLY         HA3         H         4.00         0.02         2         482           GLY         N         N         106.83         0.20         1         484           PRO         HB2         H         2.32         0.02         2         486           DEC         UCC         1         6.02         1         486	49         GLY         HA3         H         4.00         0.02         2         482           49         GLY         N         N         106.83         0.20         1         484           50         PRO         HB2         H         2.32         0.02         2         486           60         PRO         HB2         H         2.32         0.02         2         486
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	1.96 3.61 64.73 26 43	H H C	нGЗ HDЗ CA CG	PRO PRO PRO PRO	50 50 50	188 190 192 194	4 4 4 2		$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	H 1.96 U.UZ I H 3.75 0.02 2 C 176.52 0.20 1 C 31 32 0.20 1	HG2 H 1.96 U.UZ I HD2 H 3.75 0.02 2 C C 176.52 0.20 1 C C 31 32 0.20 1	PRO         HG2         H         1.96         0.02         1         4           PRO         HD2         H         3.75         0.02         2         4           PRO         C         C         176.52         0.20         1         4           DRO         C         C         176.52         0.20         1         4	50         PRO         HG2         H         1.96         0.02         I         4           50         PRO         HD2         H         3.75         0.02         2         4           50         PRO         C         C         176.52         0.20         1         4           50         PRO         C         C         176.52         0.20         1         4
13 0.20 1 18 0.02 1 59 0.02 2	9.48 3.59	H H	H HA3	GLY GLY	51 51	496 498		1	0.20 1 0.02 2	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C 49.91 0.20 1 H 4.69 0.02 2	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	50 PRO CD C 49.91 0.20 1 51 GLY HA2 H 4 69 0 02 2

$1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\$
$\begin{array}{c} 7.98\\ 4.03\\ 1.27\\ 8.96\\ 0.85\\ 9.41\\ 1.55\\ 174.30\\ 36.42\\ 126.67\\ 5.13\\ 1.44\\ 54.82\\ 123.50\\ 4.62\\ 1.07\\ 0.64\\ 174.84\\ 39.62\\ 1.8.94\\ 132.34\\ 4.79\\ 1.21\\ 61.33\\ 21.71\\ 8.36\\ 3.11\\ 7.05\\ 174.37\\ 40.98\\ 8.02\\ 3.97\\ 44.68\\ 8.15\\ 2.01\\ 7.15\\ 174.37\\ 40.98\\ 8.02\\ 3.97\\ 44.68\\ 8.15\\ 2.01\\ 7.15\\ 174.37\\ 40.98\\ 8.02\\ 3.97\\ 44.68\\ 8.15\\ 2.01\\ 7.15\\ 174.37\\ 40.98\\ 8.02\\ 3.97\\ 40.98\\ 8.15\\ 2.01\\ 7.15\\ 174.37\\ 40.98\\ 8.02\\ 3.97\\ 40.98\\ 8.15\\ 2.01\\ 7.15\\ 174.37\\ 40.98\\ 8.02\\ 3.68\\ 3.11\\ 7.05\\ 1.16\\ 8.56\\ 1.5.67\\ 36.49\\ 9.05\\ 2.88\\ 6.71\\ 11.00\\ 5.62\\ 2.86\\ 6.83\\ 6.71\\ 11.03\\ 7.40\\ 12.58\\ 8.56\\ 11.00\\ 5.62\\ 8.56\\ 15.67\\ 36.49\\ 9.05\\ 2.88\\ 6.71\\ 1.68\\ 175.64\\ 9.05\\ 2.88\\ 6.83\\ 175.84\\ 39.22\\ 2.07\\ 1.46\\ 62.30\\ 27.59\\ 1.95\\ 8.56\\ 1.83\\ 175.84\\ 39.22\\ 2.56\\ 1.83\\ 1.75\\ 1.46\\ 2.30\\ 2.56\\ 1.83\\ 1.75\\ 1.46\\ 2.30\\ 2.56\\ 1.83\\ 1.75\\ 1.46\\ 2.30\\ 2.56\\ 1.83\\ 1.83\\ 1.75\\ 1.46\\ 2.30\\ 2.56\\ 1.83\\ 1.83\\ 1.75\\ 1.46\\ 2.30\\ 2.56\\ 1.83\\ 1.83\\ 1.75\\ 1.46\\ 2.30\\ 2.56\\ 1.83\\ 1.83\\ 1.75\\ 1.46\\ 2.30\\ 2.56\\ 1.83\\ $
нннннннннооинноооннноонннооннноонноонно
H HB HG2 H HB HG2 H HB HG2 C B NA HG2 C B C B C B C B C B C B C B C B C B C
THR THR ILE LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS
522233334444455555666666677777888888889999000001111333334444455566666666666666666666666
$\begin{array}{c} 502468022468024666666666666666666$
1 1 1 1 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 1
$\begin{array}{c} 114.77\\ 4.80\\ 6.79\\ 117.54\\ 5.33\\ 9.96\\ 125.69\\ 5.269\\ 1.47\\ 54.11\\ 25.33\\ 9.23\\ 1.84\\ 174.94\\ 35.97\\ 9.17\\ 1.52\\ 0.87\\ 0.35\\ 27.87\\ 13.43\\ 8.78\\ 5175.73\\ 70.13\\ 121.78\\ 4.91\\ 7.05\\ 56.66\\ 123.93\\ 4.10\\ 173.06\\ 105.42\\ 4.90\\ 2.20\\ 9119.05\\ 4.02\\$
ИННИННИИНННССННССИНННИСССИННСИИННИНСИНСИ
NHAG1 NHAG1 NHAG2 NHAG2 NHAG2 NHAG2 NHAG1 NHAG2 NHAG2 NHAG3 NHAG2 NHAG3 NHAG2 NHAG2 NHAG3 NHAG2 NHAG3 NHAG2 NHAG3
GLHR HRRE LEE STREAM ST
522233344445555566666667777778888888899990000001133334444445556666666677777788888999990000111111112
45555555555555555555555555555555555555

2ASPCBC $42.83$ $0.20$ $1$ 3SERHB2H $3.811$ $0.02$ $2$ 3SERCBC $172.32$ $0.201$ $1$ 3SERCBC $64.89$ $0.201$ $1$ 4ILEHH $8.53$ $0.021$ $1$ 4ILEHB1H $1.96$ $0.022$ $1$ 4ILEHB1H $0.95$ $0.022$ $1$ 4ILECGIC $28.51$ $0.200$ $1$ 4ILECGIC $28.51$ $0.202$ $1$ 5ASPHB1H $0.965$ $0.022$ $1$ 6LYSHB2H $3.11$ $0.022$ $1$ 6LYSHB2H $1.877$ $0.021$ $1$ 6LYSHB2H $1.877$ $0.022$ $2$ 6LYSHB2H $1.877$ $0.022$ $1$ 6LYSNN $122.777$ $0.201$ $1$ 7GLUHB3H $1.866$ $0.022$ $1$ 7GLUHB3H $2.157$ $0.202$ $1$ 7GLUHB3H $1.866$ $0.022$ $1$ 7GLUHB3H $2.157$ $0.202$ $1$ 7GLUHB3H $2.157$ $0.202$ $1$ 7GLUHB3H $2.157$ $0.202$ $1$ 8<
$\begin{array}{c} 172.32\\ 64.89\\ 8.53\\ 1.96\\ 1.22\\ 0.95\\ 62.18\\ 28.51\\ 14.37\\ 9.06\\ 3.11\\ 176.34\\ 41.58\\ 8.80\\ 1.87\\ 1.57\\ 176.69\\ 32.57\\ 122.77\\ 3.86\\ 1.86\\ 2.15\\ 57.94\\ 36.68\\ 7.26\\ 2.63\\ 8.44\\ 173.57\\ 39.32\\ 2.55\\ 6.43\\ 36.68\\ 7.26\\ 2.63\\ 8.44\\ 173.57\\ 39.32\\ 2.55\\ 6.43\\ 3.78\\ 56.44\\ 112.06\\ 5.47\\ 2.91\\ 7.13\\ 6.49\\ 95\\ 91\end{array}$
ОННООННИНОООННИОООНННОООНННОООННИНОООННИНОООННИИ
CB H HB2 C CB H HB13 HD1 CA CG1 HB2 HC2 CCB HB3 HG3 CA CG HB3 HG3 CA CG HB3 HG3 CA CG HB2 HD21 C CB HB2 HD21 C CB HB3 HD2 HD2 HD2 HD2 HD2 HD2 HD2 HD2 HD2 HD2
ASP SER SER SER ILE ILE ILE ILE ILE ASP ASP ASP ASP LYS LYS LYS LYS LYS CLUU GLUU GLUU GLUU GLUU GLUU GLUU GLUU
72 73 73 74 74 74 74 74 74 74 74 74 75 75 76 76 76 76 77 77 77 77 78 78 78 78 79
$\begin{array}{c} 680\\ 682\\ 684\\ 686\\ 688\\ 690\\ 692\\ 694\\ 696\\ 698\\ 700\\ 702\\ 704\\ 706\\ 708\\ 710\\ 712\\ 714\\ 716\\ 718\\ 720\\ 722\\ 724\\ 726\\ 728\\ 730\\ 732\\ 734\\ 736\\ 738\\ 740\\ 744\\ 746\\ 748\\ 756\\ 758\\ 756\\ 756\\ 756\\ 756\\ 756\\ 756\\ 756\\ 756$
1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 2 2 1 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 1
0.20 0.20 0.20 0.02 0.20
$\begin{array}{c} 56.59\\ 130.80\\ 4.59\\ 3.78\\ 58.37\\ 112.57\\ 4.66\\ 1.71\\ 1.04\\ 173.69\\ 41.50\\ 17.32\\ 122.06\\ 5.01\\ 2.45\\ 52.28\\ 127.87\\ 1.51\\ 25.95\\ 8.03\\ 1.91\\ 2.15\\ 176.32\\ 29.76\\ 1.73\\ 1.51\\ 176.32\\ 29.76\\ 1.73\\ 1.51\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 176.32\\ 29.76\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.51\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.51\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.73\\ 3.82\\ 1.91\\ 2.15\\ 1.91$
СИННСИНННСССИННСИНННССННННССИНННСИННННССННССННН
CA N HA HB3 CA N HA HG2 C B CG2 N HA HG2 C B CG2 CB CCB C CB CCB CCB CCB CCB CCB CCB CC
ASP ASP SER SER SER ILE ILE ILE ILE ILE ILE ASP ASP ASP LYS LYS LYS LYS LYS LYS CLUU GLUU GLUU ASN ASN ASN ASN TYR TYR TYR SER SER TYR TYR
$\begin{array}{c} 72\\ 72\\ 73\\ 73\\ 73\\ 74\\ 74\\ 74\\ 74\\ 74\\ 74\\ 75\\ 75\\ 75\\ 76\\ 76\\ 76\\ 76\\ 76\\ 76\\ 77\\ 77\\ 77\\ 77$
679 6681 6683 6685 6687 6693 6693 6695 7009 7711 7715 7717 7717 7717 7717 7717 771

$\begin{array}{c} 4.02\\ 178.20\\ 19.08\\ 7.54\\ 1.96\\ 1.43\\ 0.60\\ 55.79\\ 27.20\\ 23.00\\ 7.59\\ 3.96\\ 10.55.79\\ 27.20\\ 23.00\\ 7.59\\ 3.96\\ 10.55.79\\ 27.20\\ 23.00\\ 7.59\\ 3.96\\ 10.55.79\\ 23.92\\ 4.220\\ 1.75\\ 2.05\\ 1.75\\ 26.36\\ 24.72\\ 2.04\\ 2.20\\ 1.75.83\\ 55.62\\ 24.72\\ 2.04\\ 2.20\\ 1.75.83\\ 55.62\\ 24.72\\ 9.10\\ 31.65\\ 122.88\\ 4.73\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 0.66\\ 60.719\\ 14.22\\ 9.10\\ 31.82\\ 65.38\\ 9.14\\ 2.05\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 55.62\\ 22.95\\ 7.43\\ 1.53\\ 22.05\\ 5.67\\ 9.17\\ 17.78\\ 122.66\\ 5.34\\ 9.14\\ 2.92\\ 2.05\\ 36.54\\ 9.17\\ 1.77\\ 12.73\\ 71.78\\ 122.66\\ 5.34\\ 9.14\\ 2.92\\ 2.05\\ 36.54\\ 9.17\\ 1.72\\ 2.65\\ 1.92\\ 2.13\\ 1.64\\ 2.92\\ 2.05\\ 36.54\\ 9.17\\ 1.72\\ 1.64\\ 2.92\\ 2.05\\ 36.54\\ 9.17\\ 1.78\\ 1.22.66\\ 1.95\\ 1.95\\ 2.13\\ 1.95\\ 1.95\\ 2.13\\ 1.95\\ $
нооннннооонниинооонннноооннннооонннооннннооонноонннооннноонниоопннннооонннноооннннооонннноооннноо
HC CB H BHG 2 CC H HA N A BC N A B C C B A B C C N A B B C C H B B G C C C H B C C C H B C C C H B C C C C C
ALA ALA LEU LEU LEU LEU LEU LEU LEU LEU LEU LEU
90091191999999999999999999999999999999
8624680246802468024680246802468024680246
1 1 1 1 2 2 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
8.24 1.24 53.87 120.02 4.24 1.74 0.77 177.66 40.24 25.12 114.70 3.96 46.34 8.79 2.73 177.43 177.43 7.90 4.38 177.43 7.90 4.38 175.67 4.26 5.04 1.24 1.24 1.24 1.24 1.25 12.73 177.43 7.90 4.38 175.67 4.22 5.04 1.26 1.257 1.27 1.27 1.27 1.29 2.204 1.42 1.26 2.200 2.001 2.013 3.121 1.57 6.52 6.499 1.26 4.292 1.421 1.26 4.292 1.421 1.26 1.
ннолиннноооиноннооннооиннноооинннооннннооиннноооинноиннниоинннооннннноооинннноооиннноооиннооонна
H HB C N H HB C C C N H HB C C C N H HB HC C C C N HB HC C C C C N HB C C N HB C C N HB HC C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C C N HB HC C C N HB HC C C N HB HC C C C N HB HC C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C N HB HC C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C C N HB HC C C C C N H HC C N HB HC C C C C N HB HC C C C C N H
ALA ALA ALA ALA ALA LEUU LEUU LEUU LEUU
90 90 90 91 91 91 91 91 92 93 93 93 93 94 94 94 94 95 95 95 95 95 95 95 95 95 95 95 95 95
88888888888888888888888888899999999999

1000	100				100 01	0 00	-	1040	100				0.16		-
T039	T06	ALA	N	N	127.71	0.20	T	1040	107	SER	н	Н	8.16	0.02	T.
1041	107	SER	HA	Н	4.85	0.02	1	1042	107	SER	HB2	Н	4.18	0.02	2
1043	107	SER	HB3	Н	3.46	0.02	2	1044	107	SER	CA	С	54.54	0.20	1
1045	107	SER	CB	С	64 22	0 20	1	1046	107	SER	N	N	119 83	0 20	1
1017	100			11	2 00	0.20	÷	1010	100		dD.	2	E1 02	0.20	1
1047	100	PRO	HDZ	п	3.00	0.02	2	1048	100	PRO	CD	C	51.02	0.20	T
1049	109	SER	HA	н	4.48	0.02	1	1050	109	SER	HB2	Н	4.10	0.02	2
1051	109	SER	HB3	Н	3.75	0.02	2	1052	109	SER	С	С	174.88	0.20	1
1053	109	SER	CA	С	58.06	0.20	1	1054	109	SER	CB	С	63.40	0.20	1
1055	110	CLV	U U	ŭ	7 82	0 02	1	1056	110	CLV	UA 2	ŭ	4 41	0 02	2
1055	110	GLI		п	7.04	0.02	Ť	1050	110	GLI	паz G	п	174 00	0.02	1
1057	110	GLY	HA3	н	3.78	0.02	2	1058	110	GLY	C	C	1/4.08	0.20	T
1059	110	GLY	CA	С	45.34	0.20	1	1060	110	GLY	N	Ν	110.02	0.20	1
1061	111	GLY	Н	Н	7.35	0.02	1	1062	111	GLY	HA2	Н	3.90	0.02	2
1063	111	CL.V	<u>нд</u> З	н	3 77	0 02	2	1064	111	CL.V	C	C	174 68	0 20	1
1005	111	GLI	IIA.J		12 02	0.02	1	1004	111	GLI			100 20	0.20	1
1065	TTT	GГЛ	ĊA	Ċ	43.93	0.20	T	1066	TTT	GГЛ	IN	IN	108.32	0.20	T
1067	112	SER	Н	Н	8.71	0.02	1	1068	112	SER	HA	Н	5.41	0.02	1
1069	112	SER	HB2	Н	3.34	0.02	1	1070	112	SER	HB3	Н	3.34	0.02	1
1071	112	SEB	HC	н	5 72	0 02	1	1072	112	SEB	C	C	173 39	0 20	1
1071	112	OPD	IIG GD		5.72	0.02	1	1072	110	OBL	C D	ä	173.39	0.20	1
1073	112	SER	ĊA	C	59.02	0.20	1	1074	112	SER	CB	C	67.29	0.20	1
1075	112	SER	N	Ν	119.15	0.20	1	1076	113	ILE	н	Н	9.51	0.02	1
1077	113	ILE	HA	Η	4.30	0.02	1	1078	113	ILE	HB	Η	1.63	0.02	1
1079	113	TLE	HG12	н	1.33	0.02	2	1080	113	TLE	HG13	н	1.00	0.02	2
1001	112	TT 10	uC2	U	0 72	0.02	1	1000	112	TT 17	UD1	U U	0 70	0.02	1
1001	113	1116	пGZ	п	1	0.02	1	1082	113	1115	HDI	п	0.70	0.02	1
1083	113	ТГĘ	Ċ	C	1/4.81	0.20	T	1084	113	ТГĘ	ĊA	C	61.18	0.20	1
1085	113	ILE	CB	С	39.00	0.20	1	1086	113	ILE	CG1	С	27.67	0.20	1
1087	113	ILE	CG2	С	17.64	0.20	1	1088	113	ILE	CD1	С	13.30	0.20	1
1089	113	TLE	N	N	125 57	0 20	1	1090	114	TLE	н	н	9 05	0 02	1
1001	114	TT 10	117	11	1 20	0.20	1	1000	114	TT 10	IID	11	1 17	0.02	1
1091	114	エ니쯔	HA	н	4.30	0.02	1	1092	114	エ니┺	нв	н	1.1/	0.02	T
T033	$\perp \perp 4$	ILE	HG12	н	1.02	0.02	2	1094	$\perp \perp 4$	ILE	HG13	Н	0.45	0.02	2
1095	114	ILE	HG2	Η	0.38	0.02	1	1096	114	ILE	HD1	Η	0.06	0.02	1
1097	114	TLE	С	С	174.81	0.20	1	1098	114	TLE	CA	С	61.13	0.20	1
1000	114	TLF	CP	č	28 55	0 20	1	1100	114	TLF	CC1	č	28 37	0.20	1
1099	114	1116	CB	C	30.55	0.20	1	1100	114	1115	CGI	Č	20.37	0.20	1
TIOT	$\perp \perp 4$	ТГĘ	CG2	C	19.19	0.20	T	1102	114	ТГĘ	CDI	C	15.14	0.20	T
1103	114	ILE	N	Ν	127.95	0.20	1	1104	115	LYS	н	Н	9.01	0.02	1
1105	115	LYS	HA	Η	4.84	0.02	1	1106	115	LYS	HB2	Н	1.89	0.02	2
1107	115	LYS	HB3	н	1.82	0.02	2	1108	115	LYS	HG2	н	1.36	0.02	1
1100	115	TVC	UC 2	U	1 26	0.02	1	1110	115	TVC	C	C	175 00	0.20	1
1111	115	113	пG5	п	1.30	0.02	1	1110	115	113	C C	č	1/5.00	0.20	1
$\bot \bot \bot \bot \bot$	115	LYS	ĊA	C	55.19	0.20	T	1112	115	LYS	CB	C	33.15	0.20	T
1113	115	LYS	CG	С	24.99	0.20	1	1114	115	LYS	N	Ν	127.21	0.20	1
1115	116	SER	Н	Н	8.75	0.02	1	1116	116	SER	HA	Н	5.55	0.02	1
1117	116	SEB	HB2	н	3 88	0 02	2	1118	116	SEB	HB3	н	3 66	0 02	2
1110	110	OBR	a a a a a a a a a a a a a a a a a a a		172 70	0.02	1	1120	110	OBR	an a		5.00	0.02	1
1119	110	SER	C	C	1/3./9	0.20	T	1120	110	SER	CA	C	50.80	0.20	T
1121	116	SER	CB	С	64.95	0.20	1	1122	116	SER	N	Ν	121.02	0.20	1
1123	117	THR	Н	Η	9.41	0.02	1	1124	117	THR	HA	Н	4.98	0.02	1
1125	117	THR	HB	н	3.86	0.02	1	1126	117	THR	HG2	н	0.76	0.02	1
1127	117	TUD	C	G	172 21	0.20	1	1120	117	TUD	C7	C	62 00	0.20	1
1120	117		C C D	ä	70.40	0.20	1	1120	117		dd o	ä	02.00	0.20	1
1129	TT /	THR	CB	Ċ	70.49	0.20	T	1130	11 /	THR	CGZ	C	22.65	0.20	T
1131	117	THR	N	Ν	126.20	0.20	1	1132	118	SER	Н	Н	8.94	0.02	1
1133	118	SER	HA	Н	5.06	0.02	1	1134	118	SER	HB2	Н	3.52	0.02	1
1135	118	SER	HB3	н	3 5 2	0 02	1	1136	118	SER	C	C	172 35	0 20	1
1127	110	CED			EE 0E	0.02	1	1120	110	CED	d D	ä	172.33 66 0E	0.20	1
1137	110	SER	CA	C	55.95	0.20	1	1130	110	SER	СВ	C	00.05	0.20	T
1139	118	SER	N	N	121.08	0.20	T	1140	119	HIS	н	Н	9.28	0.02	T
1141	119	HIS	HA	Н	5.27	0.02	1	1142	119	HIS	HB2	Н	3.15	0.02	2
1143	119	HIS	HB3	Н	2.42	0.02	2	1144	119	HIS	HD2	Н	6.62	0.02	1
1145	119	HIS	HE1	н	7 67	0 02	1	1146	119	HIS	C	C	174 27	0 20	1
1147	110	UTC	C7	2	52 06	0.02	1	11/0	110	UTC	CP	č	21 05	0.20	1
114/	119	піз	CA	C	100 22	0.20	1	1148	100	ni s	CB	C	31.03	0.20	1
1149	119	HIS	N	N	122.33	0.20	T	1150	120	TYR	н	Н	10.04	0.02	T.
1151	120	TYR	HA	Н	4.48	0.02	1	1152	120	TYR	HB2	Н	3.48	0.02	2
1153	120	TYR	HB3	Η	2.75	0.02	2	1154	120	TYR	HD1	Н	7.19	0.02	1
1155	120	TYR	HD2	н	7.19	0.02	1	1156	120	TYR	HE1	н	6.72	0.02	1
1157	120	TVD	LLE 2	u	6 72	0 02	1	1158	120	TVD	C	C	174 74	0.20	1
1157	120	TIK	пьг	п	0.72	0.02	1	1158	120	TIK	C C	č	1/4./4	0.20	1
1159	120	TYR	ĊA	C	58.18	0.20	T	1160	120	TYR	CB	C	39.32	0.20	1
TT0T	T70	Ί'YR	N	Ń	126.37	0.20	T	1162	121	HIS	н	Н	8.22	0.02	T
1163	121	HIS	HA	Η	5.14	0.02	1	1164	121	HIS	HB2	Η	3.26	0.02	2
1165	121	HIS	HB3	Η	3.17	0.02	2	1166	121	HIS	HD2	Η	6.82	0.02	1
1167	121	HIG	HE1	н	7 5 2	0 02	1	1162	121	HTS	C.	C	175 70	0 20	1
1160	121	UTC	C7	2	55 55	0.02	1	1170	121	UTC	CP	č	30 50	0.20	1
1107	101	1110	CA N		102.00	0.20	1		100	TTT D		с ••	50.50	0.20	1
11/1	121	HIS	IN	N	123.98	0.20	Ţ	1172	122	THR	н	Н	8.79	0.02	Ţ
1173	122	THR	HА	Η	4.88	0.02	1	1174	122	THR	HВ	Η	4.52	0.02	1
1175	122	THR	HG1	Η	5.85	0.02	1	1176	122	THR	HG2	Η	1.32	0.02	1
1177	122	THR	С	С	174.54	0.20	1	1178	122	THR	CA	С	61.68	0.20	1
1170	122	סעיד	CB	č	70 66	0.20	1	1100	122	יייי	CG2	č	22 41	0 20	1
1101	100			L NT	116 40	0.20	1	1100	100			с тт	44.41	0.20	1
TTRT	122	THR	IN	N	110.48	0.20	1	TT85	123	цт2.	н	н	8.3⊥	0.02	Ť
1183	123	LYS	HA	Η	4.55	0.02	1	1184	123	LYS	HB2	Η	1.81	0.02	2
1185	123	LYS	HB3	Η	1.51	0.02	2	1186	123	LYS	С	С	176.34	0.20	1
1187	123	LYS	CA	C	55 99	0.20	1	1188	123	LYS	CB	Ċ	33 00	0.20	1
1100	102	TVO	N	NT	121 00	0 20	1	1100	10/	CTV	ц Ц	ц	0 22	0 00	1
1107	104	LID CT		11	121.00	0.20	Ť	1100	104	GLI GT T	п 117 2	п	0.33	0.02	Ť
TTAT	124	GLY	HAZ	H	3.98	0.02	2	1192	124	GГЛ	нАЗ	Н	3.84	0.02	2
1193	124	GLY	CA	С	45.31	0.20	1	1194	124	GLY	N	N	109.79	0.20	1
1195	125	ASN	Н	Η	8.55	0.02	1	1196	125	ASN	HA	Η	4.70	0.02	1
1197	125	ASM	HR2	н	2 93	0 02	2	1198	125	ASM	HB3	н	2 72	0 02	2
1100	105	7 CINT	UD2	11 TJ	7 51	0.02	2	1000	105	V CIPL	1000	ц Ц	2.72	0.02	2
1001	145	ASN	πDZ1 α	н	/.51	0.02	4	1200	105	ASN	пD22	н	0.80	0.02	2
T70T	125	ASN	C	C	174.62	0.20	T	1202	125	ASN	CA	С	53.29	0.20	Ţ
1203	125	ASN	CB	С	37.77	0.20	1	1204	125	ASN	N	Ν	118.69	0.20	1
1205	125	ASN	ND2	Ν	112.06	0.20	1	1206	126	VAL	Н	Η	7.59	0.02	1
1207	126	VAT.	HA	Н	4.32	0.02	1	1208	126	VAT.	HB	Н	2.09	0.02	1
1209	126	VAT.	HG1	н	0 94	0 02	1	1210	126	VAT.	HG2	н	0 94	0 02	1
1011	100	1777 T		~	174 77	0.02	1	1010	100	لللاء v 1777 T	07	~	60 04	0.02	1
	120	VAL	0	Ċ	14.11	0.20	1	1212	120	VAL	CA	Ċ	00.94	0.20	Ť
1213	126	VAL	CB	С	34.36	0.20	T	1214	126	VAL	CG1	C	19.94	0.20	2
1215	126	VAL	CG2	С	21.42	0.20	2	1216	126	VAL	N	Ν	118.29	0.20	1
1217	127	GLU	Н	Η	8.24	0.02	1	1218	127	GLU	HA	Η	4.12	0.02	1

1010	107	<b>AT 11</b>			1 0 5	0 00	~	1000	100	<b>AT 11</b>			1 70	0 00	~
1219	127	GLU	HBZ	H	1.85	0.02	1	1220	127	GLU	HB3	H	1.79	0.02	2
1221	127	CLU	nG2	п	175 74	0.02	1	1222	127	CLU	ПG3 СЛ	С	2.10	0.02	1
1225	127	GLU	CP	c	30 76	0.20	1	1224	127	GLU	CA	c	36 08	0.20	1
1225	127	GLU	N	N	123 37	0.20	1	1220	128	TLF	Ч	ч	7 24	0.20	1
1229	128	TLE	ΗΔ	н	3 97	0.20	1	1220	128	TLE	HB	н	1 30	0.02	1
1231	128	ILE	HG12	Н	1.02	0.02	2	1232	128	ILE	HG13	Н	0.92	0.02	2
1233	128	ILE	HG2	Н	0.33	0.02	1	1234	128	ILE	HD1	Н	0.51	0.02	1
1235	128	ILE	C	С	175.45	0.20	1	1236	128	ILE	CA	С	59.12	0.20	1
1237	128	ILE	CB	С	37.54	0.20	1	1238	128	ILE	CG1	С	27.30	0.20	1
1239	128	ILE	CG2	С	17.13	0.20	1	1240	128	ILE	CD1	С	12.31	0.20	1
1241	128	ILE	Ν	Ν	123.56	0.20	1	1242	129	LYS	Н	Η	8.67	0.02	1
1243	129	LYS	HA	Η	4.25	0.02	1	1244	129	LYS	HB2	H	1.80	0.02	2
1245	129	LYS	HB3	H	1.43	0.02	2	1246	129	LYS	HG2	Н	1.54	0.02	1
124/	129	LIS	HG3	H	1.54	0.02	1	1248	129	LYS	C	C	1//.46	0.20	1
1249	129	LVC	CA	C	25.00	0.20	1	1250	129	LIS	N	N	34.79 127 33	0.20	1
1251	130	GUI	Ч	н	8 79	0.20	1	1252	130	GUI	НД	H	3 69	0.20	1
1255	130	GLU	HB2	н	2.02	0.02	2	1256	130	GLU	HB3	н	1.92	0.02	2
1257	130	GLU	HG2	H	2.21	0.02	1	1258	130	GLU	HG3	Н	2.21	0.02	1
1259	130	GLU	С	С	178.42	0.20	1	1260	130	GLU	CA	С	59.60	0.20	1
1261	130	GLU	CB	С	29.29	0.20	1	1262	130	GLU	CG	С	36.24	0.20	1
1263	130	GLU	Ν	Ν	125.33	0.20	1	1264	131	GLU	Н	Η	9.16	0.02	1
1265	131	GLU	HA	Η	3.93	0.02	1	1266	131	GLU	HB2	Η	1.89	0.02	1
1267	131	GLU	HB3	H	1.89	0.02	1	1268	131	GLU	HG2	H	2.08	0.02	1
1209	121	GLU	HG3	Н	2.08	0.02	1	1270	121	GLU	C	C	1/8.53	0.20	1
1272	121	GLU	CA	C	25 01	0.20	1	1272	121	GLU	CB M	C N	28.88	0.20	1
1275	132	HIS	Ч	н	7 43	0.20	1	1274	132	HIS	НД	H	4 40	0.20	1
1277	132	HIS	HB2	н	3 16	0.02	1	1278	132	HIS	HB3	н	3 16	0.02	1
1279	132	HIS	HD2	H	6.93	0.02	1	1280	132	HIS	HE1	H	7.64	0.02	1
1281	132	HIS	С	С	178.25	0.20	1	1282	132	HIS	CA	С	58.61	0.20	1
1283	132	HIS	CB	С	31.36	0.20	1	1284	132	HIS	Ν	Ν	119.63	0.20	1
1285	133	VAL	H	Η	7.15	0.02	1	1286	133	VAL	HA	Η	3.63	0.02	1
1287	133	VAL	HB	Η	1.78	0.02	1	1288	133	VAL	HG1	Η	0.16	0.02	2
1289	133	VAL	HG2	H	0.30	0.02	2	1290	133	VAL	C	C	178.91	0.20	1
1291	133	VAL	CA	C	64.86	0.20	T	1292	133	VAL	CB	C	31.63	0.20	T
1293	133	VAL	CGI	C	20.53	0.20	2	1294	133	VAL	CG2	C	20.45	0.20	2
1295	133 134	LVC	N UN	IN LI	119.89	0.20	1 1	1296	134	LIS	н цр)	H U	8.14 1.80	0.02	1
1299	134	LVG	HB3	ч	1 80	0.02	1	1300	134	LVS	HG2	н	1 40	0.02	1
1301	134	LYS	HG3	Н	1.40	0.02	1	1302	134	LYS	HD2	Н	1.64	0.02	1
1303	134	LYS	HD3	Н	1.64	0.02	1	1304	134	LYS	HE2	Н	2.93	0.02	1
1305	134	LYS	HE3	Η	2.93	0.02	1	1306	134	LYS	С	С	178.47	0.20	1
1307	134	LYS	CA	С	59.71	0.20	1	1308	134	LYS	CB	С	32.49	0.20	1
1309	134	LYS	CG	С	24.99	0.20	1	1310	134	LYS	CD	С	29.10	0.20	1
1311	134	LYS	CE	С	41.86	0.20	1	1312	134	LYS	N	Ν	120.99	0.20	1
1313	135	ALA	H	H	7.91	0.02	1	1314	135	ALA	HA	H	4.19	0.02	1
1217	125	ALA	HB	H	1.46 54 07	0.02	1	1316	125	ALA	C	C	10.75	0.20	1
1319	135	ALA AT.A	N	N	121 41	0.20	1	1310	136	GL.V	ч	ч	7 92	0.20	1
1321	136	GLY	HA2	н	3.99	0.02	2	1322	136	GLY	HA3	н	3.84	0.02	2
1323	136	GLY	C	C	176.76	0.20	1	1324	136	GLY	CA	C	47.08	0.20	1
1325	136	GLY	N	N	106.00	0.20	1	1326	137	LYS	Н	Н	7.92	0.02	1
1327	137	LYS	HA	Η	4.28	0.02	1	1328	137	LYS	HB2	Η	2.00	0.02	1
1329	137	LYS	HB3	Η	2.00	0.02	1	1330	137	LYS	HG2	Η	1.62	0.02	2
1331	137	LYS	HG3	Н	1.52	0.02	2	1332	137	LYS	C	C	178.80	0.20	1
1333	137	LYS	CA	C	59.6L	0.20	1	1334	137	LYS	CB	C	32.60	0.20	1
1227	120	CIU	UG U	U U	25.1U	0.20	1	1220	120	CIU	IN LI A	IN LI	124.02	0.20	1
1339	138	GLU	н нв2	н	2 06	0.02	1	1330	138	GLU	HR3	н	2 06	0.02	1
1341	138	GLU	HG2	Н	2.35	0.02	2	1342	138	GLU	HG3	Н	2.24	0.02	2
1343	138	GLU	C	С	178.82	0.20	1	1344	138	GLU	CA	С	59.18	0.20	1
1345	138	GLU	CB	С	29.42	0.20	1	1346	138	GLU	CG	С	36.27	0.20	1
1347	138	GLU	Ν	Ν	120.57	0.20	1	1348	139	LYS	Н	Η	7.99	0.02	1
1349	139	LYS	HA	Η	4.00	0.02	1	1350	139	LYS	HB2	H	1.81	0.02	1
1351	139	LYS	HB3	H	1.81	0.02	Ţ	1352	139	LYS	HG2	H	1.53	0.02	2
1353	120	LIS	HG3	н	L.40	0.02	1	1354	120	LIS	C OD	d	1/9.32	0.20	1
1355	139	LVG	CA	ĉ	25 80	0.20	1	1350	139	LIS	N	N	110 36	0.20	1
1359	140	AT.A	н	н	25.00	0.20	1	1360	140	AT.A	НД	H	3 96	0.20	1
1361	140	ALA	HB	H	1.42	0.02	1	1362	140	ALA	C	C	179.21	0.20	1
1363	140	ALA	CA	C	54.89	0.20	1	1364	140	ALA	СВ	Ĉ	18.23	0.20	1
1365	140	ALA	N	Ν	121.90	0.20	1	1366	141	SER	Н	Н	8.28	0.02	1
1367	141	SER	HA	Н	3.78	0.02	1	1368	141	SER	HB2	Н	3.90	0.02	1
1369	141	SER	HB3	Η	3.90	0.02	1	1370	141	SER	С	С	177.12	0.20	1
1371	141	SER	CA	С	61.24	0.20	1	1372	141	SER	СВ	С	62.81	0.20	1
1373	141 140	SER	N	N	113.37	0.20	1	1374	⊥42 140	ASN	H	H	8.21	0.02	1
1277	142	ASN	нА цр 2	H	4.39	0.02	⊥ 2	1376	142 140	ASN	HBZ UD01	H	2.88 7 E0	0.02	2
1379	142	ADN	лвз Нр??	н Ч	∠./⊥ 6 95	0.02	∠ 2	13/8 1320	⊥ <del>4</del> ∠ 142	ASN	C C	С	0.50 177 27	0.02	∠ 1
1381	142	ASN	CA	C	56 16	0.20	1	1382	142	ASN	CB	C	38.52	0.20	1
1383	142	ASN	N	Ň	119.06	0.20	ī	1384	142	ASN	ND2	Ň	112.47	0.20	1
1385	143	LEU	Н	Н	7.68	0.02	1	1386	143	LEU	HA	Н	4.01	0.02	1
1387	143	LEU	HB2	Н	1.63	0.02	2	1388	143	LEU	HB3	Н	1.53	0.02	2
1389	143	LEU	HG	Η	1.42	0.02	1	1390	143	LEU	HD1	Η	0.74	0.02	2
1391	143	LEU	HD2	H	0.80	0.02	2	1392	143	LEU	С	C	178.56	0.20	1
1393	143	LEU	CA	C	58.04	0.20	1	1394	143	LEU	CB	C	41.02	0.20	1
1395 1307	143 142	LEU	CG	C	26.98	0.20	⊥ 2	1396	⊥43 142	LEU	CDT	C	24.94	0.20	2
エンフノ	743	பட∪		L	∠3./∪	0.40	<u>ک</u>	T 2 2 9	- <del>-</del>	பட∪	TN	TN	, U/	0.40	1

1399	144	PHE	н	н	8.00	0.02	1	1400	144	PHE	НА	н	3,93	0.02	1
1401	144	DHE	HB2	н	2 93	0 02	2	1402	144	DHF	HB3	н	2 76	0 02	2
1402	111			11	6 54	0.02	1	1404	144		IID 3	11 TT	6 54	0.02	1
1403	144	PHE	HD1	п	0.54	0.02	1	1404	144	PHE	HDZ	п	6.54	0.02	1
1405	144	PHE	HEI	н	6.50	0.02	T	1406	144	PHE	HE2	Н	6.50	0.02	T
1407	144	PHE	C	С	178.18	0.20	1	1408	144	PHE	CA	С	62.29	0.20	1
1409	144	PHE	CB	С	37.58	0.20	1	1410	144	PHE	N	Ν	117.23	0.20	1
1411	145	LYS	н	н	8.10	0.02	1	1412	145	LYS	HA	н	4.06	0.02	1
1/12	145	TVC	<u>ир</u> Э	U	1 00	0 02	1	1 4 1 4	1/5	TVC	1102	U	1 00	0.02	1
1415	145	113	пьг	п	170 20	0.02	1	1414	145	LIS	пьз	п	I.90	0.02	1
1415	145	LIS	0	C	1/9.30	0.20	T	1416	145	LIS	CA	C	59.31	0.20	T
1417	145	LYS	CB	С	31.79	0.20	T	1418	145	LYS	CG	C	24.96	0.20	T
1419	145	LYS	N	N	120.05	0.20	1	1420	146	LEU	Н	Н	7.97	0.02	1
1421	146	LEU	HA	н	4.11	0.02	1	1422	146	LEU	HB2	Н	1.99	0.02	2
1423	146	LEU	HB3	н	1.43	0.02	2	1424	146	LEU	HG	н	1.86	0.02	1
1425	146	LEII	цр1	ц.	0 88	0 02	1	1426	146	LEII	<u>и</u> р2	u U	0.88	0 02	1
1407	140		IID1		100.00	0.02	1	1420	140	11110			0.00	0.02	1
142/	146	上近し	C	C	180.44	0.20	T	1428	146	LEU	ĊA	C	58.1/	0.20	T
1429	146	LEU	CB	С	42.32	0.20	1	1430	146	LEU	CG	С	26.68	0.20	1
1431	146	LEU	CD1	С	25.49	0.20	2	1432	146	LEU	CD2	С	23.46	0.20	2
1433	146	LEU	Ν	Ν	121.29	0.20	1	1434	147	ILE	н	Н	8.18	0.02	1
1435	147	TLE	НΔ	н	3 51	0 02	1	1436	147	TLE	HB	н	1 85	0 02	1
1427	147		UC12	ц Ц	1 72	0.02	2	1/20	147		UC12	и П	1.05	0.02	2
1437	147	1116	HGIZ	п	1.72	0.02	2	1430	147	1116	HGI 5	п	0.02	0.02	- 2
1439	147	ТГĘ	HG2	н	0.71	0.02	T	1440	147	TTR	HDI	Н	0.64	0.02	T
1441	147	ILE	С	С	177.13	0.20	1	1442	147	ILE	CA	С	65.48	0.20	1
1443	147	ILE	CB	С	37.76	0.20	1	1444	147	ILE	CG1	С	29.52	0.20	1
1445	147	ILE	CG2	С	17.39	0.20	1	1446	147	ILE	CD1	С	13.51	0.20	1
1447	147	TLF	N	N	120 97	0 20	1	1448	148	CLII	ц Ц	ŭ	8 69	0 0 2	1
1440	140	CTIL	117	TT	2 60	0.20	1	1450	140	CTIT	11 2	11 TT	2.09	0.02	1
1449	140	GLU	HA	п	5.09	0.02	1	1450	140	GLU	пви	п	2.00	0.02	1
1451	148	GLU	HB3	н	2.08	0.02	T	1452	148	GLU	HG2	Н	2.12	0.02	T
1453	148	GLU	HG3	Н	2.12	0.02	1	1454	148	GLU	С	С	178.08	0.20	1
1455	148	GLU	CA	С	60.45	0.20	1	1456	148	GLU	CB	С	30.16	0.20	1
1457	148	GLU	CG	C	37 14	0 20	1	1458	148	GUI	N	N	121 84	0 20	1
1459	149	тир	ц	ŭ	8 4 2	0 02	1	1460	149	TUD	цл	ц.	3 82	0 02	1
1461	140		11	11	4 22	0.02	1	1400	140	mun	IIA IIA	11	1 00	0.02	1
1401	149	IRK	пь	п	4.34	0.02	1	1402	149	IRK	HG2	п	1.29	0.02	1
1463	149	THR	Ċ	C	1//.13	0.20	T	1464	149	THR	ĊA	Ċ	67.07	0.20	T
1465	149	THR	CB	С	68.79	0.20	1	1466	149	THR	CG2	С	21.70	0.20	1
1467	149	THR	N	Ν	115.26	0.20	1	1468	150	TYR	н	Н	7.96	0.02	1
1469	150	TYR	HA	Η	4.31	0.02	1	1470	150	TYR	HB2	Η	3.15	0.02	1
1471	150	TYR	HB3	н	3 15	0.02	1	1472	150	TYR	HD1	н	6,90	0.02	1
1472	150	TVD	цр.2	U	6 90	0 02	1	1474	150	TVD	1101	U	6 25	0.02	1
1475	150	TIK	HDZ	п	0.90	0.02	1	1474	150	TIK	HEI G	п	170.33	0.02	1
14/5	150	TYR	HEZ	н	6.35	0.02	T	14/6	150	TYR	C	C	1/8./8	0.20	T
1477	150	TYR	CA	С	62.37	0.20	1	1478	150	TYR	CB	С	38.41	0.20	1
1479	150	TYR	N	Ν	123.60	0.20	1	1480	151	LEU	Н	Η	8.81	0.02	1
1481	151	LEU	HA	н	3.96	0.02	1	1482	151	LEU	HB2	Н	1.95	0.02	2
1483	151	T.FII	HB3	н	1 35	0 02	2	1484	151	T.FTT	HC	н	2 10	0 02	1
1405	151	TETT	up1	ц Ц	0 76	0.02	2	1/06	151	TETT	110	и П	0 00	0.02	2
1405	151	160	HD1	п	0.76	0.02	2	1400	151	LE0	HDZ	п	0.90	0.02	2
1487	151	LEU	C	C	180.26	0.20	T	1488	151	LEU	ĊA	C	57.84	0.20	T
1489	151	LEU	CB	С	41.05	0.20	1	1490	151	LEU	CG	С	26.94	0.20	1
1491	151	LEU	CD1	С	27.61	0.20	2	1492	151	LEU	CD2	С	22.95	0.20	2
1493	151	LEU	N	Ν	120.40	0.20	1	1494	152	LYS	н	Н	8.55	0.02	1
1495	152	LVS	НΔ	н	4 03	0 02	1	1496	152	LVS	HB2	н	1 99	0 02	2
1407	152	TVC	1172	11 TT	1 0 0	0.02	2	1400	152	TVC	IID2	11 TT	1 40	0.02	1
1497	152	113	пвз	п	1.02	0.02	1	1498	152	113	HG2	п	170 40	0.02	1
1499	152	LIS	HG3	н	1.40	0.02	T	1500	152	LIS	Ċ	Ċ	1/8.42	0.20	1
1501	152	LYS	CA	С	59.33	0.20	1	1502	152	LYS	CB	С	32.15	0.20	1
1503	152	LYS	CG	С	25.45	0.20	1	1504	152	LYS	CD	С	29.56	0.20	1
1505	152	LYS	N	Ν	119.90	0.20	1	1506	153	GLY	н	Н	7.51	0.02	1
1507	153	GLY	HA2	н	4.01	0.02	2	1508	153	GLY	HA3	Н	3.60	0.02	2
1509	153	GLY	С	C	172 97	0 20	1	1510	153	GLY	CA	С	44 92	0 20	1
1511	153	CLV	N	N	103 74	0.20	1	1512	154	UTC	u u	ŭ	7 18	0.02	1
1511	153	UTO	11	11	103.74	0.20	1	1514	154	111.5	11	11	7.10	0.02	÷
1513	154	HIS	HA	н	4.81	0.02	T	1514	154	HIS	HBZ	н	2.89	0.02	2
1212	154	HIS	нвз	н	2.44	0.02	2	1910	154	HIS	HD2	H	6.78	0.02	1
1517	154	HIS	HEl	Η	7.85	0.02	1	1518	154	HIS	CA	С	54.10	0.20	1
1519	154	HIS	CB	С	27.98	0.20	1	1520	154	HIS	N	Ν	117.57	0.20	1
1521	155	PRO	HA	Η	4.35	0.02	1	1522	155	PRO	HB2	Η	2.31	0.02	2
1523	155	PRO	HB3	н	1 94	0.02	2	1524	155	PRO	HG2	н	1 90	0.02	1
1525	155	DPO	HG3	ц	1 00	0 02	1	1506	155	DPO	HD2	ц	3 56	0 02	5
1507	155	1.100	с. С. С. С. С. С.	11 TT	1.20 2.0F	0.02	- -	1520	155	110	2 مىن	~	176 12	0.02	1
1527	155	PRU	прз	п	3.45	0.02	4	1528	155	PRU		Ċ	1/0.13	0.20	1
1529	122	PRO	CA	C	04.70	0.20	Ţ	1530	155	PRO	CB	C	3∠.⊥⊥	0.20	1
1531	155	PRO	CG	С	26.87	0.20	1	1532	155	PRO	CD	С	50.41	0.20	1
1533	156	ASP	Н	Η	8.51	0.02	1	1534	156	ASP	HA	Η	4.53	0.02	1
1535	156	ASP	HB2	Η	2.64	0.02	2	1536	156	ASP	HB3	Η	2.56	0.02	2
1537	156	ASP	С	С	176.35	0.20	1	1538	156	ASP	CA	С	53.96	0.20	1
1520	156	AGD	CB	ĉ	40 61	0 20	1	1540	156	7 CD	N	N	114 51	0 20	1
15/1	157	717	ц	ч	7 72	0.20	1	1540	157	717	цл 1	L1 TN	<u> </u>	0.20	1
1041	155	лцА	п	п	1.14	0.02	1	1542	155/	льА	пА	п	4.10	0.02	1
1543	157	ALA	нв	H	1.39	0.02	Ţ	1544	157	АĽА	C	C	177.70	0.20	Ţ
1545	157	ALA	CA	С	52.48	0.20	1	1546	157	ALA	CB	С	19.79	0.20	1
1547	157	ALA	Ν	Ν	124.26	0.20	1	1548	158	TYR	H	Η	8.67	0.02	1
1549	158	TYR	HA	Н	4.06	0.02	1	1550	158	TYR	HB2	Η	3.30	0.02	2
1551	158	TYR	HB3	н	3 0 2	0.02	2	1550	158	TYR	HD1	н	6 89	0.02	1
1552	150		1000	ц Ц	6 00	0 00	1	1 /	150		UP1	U	6 75	0 0 2	1
1555	100			11 17	0.09	0.02	1	1004	100		UPT 0	п С		0.02	1
1000	T20	TXK	머뜨고	н	6.75	0.02	Ţ	1556	128	TIK	C 7-	Ċ	1/3.44	0.20	Ţ
1557	158	TYR	CA	С	60.08	0.20	1	1558	158	TYR	CB	С	35.16	0.20	1
1559	158	TYR	N	Ν	117.87	0.20	1	1560	159	ASN	Н	Η	7.61	0.02	1
1561	159	ASN	HA	Η	4.60	0.02	1	1562	159	ASN	HB2	Η	2.77	0.02	2
1563	159	ASN	HB3	Н	2.50	0.02	2	1564	159	ASN	HD21	Η	7.20	0.02	2
1565	159	ASN	HD22	н	6.80	0.02	2	1566	159	ASN	CA	C	54 35	0.20	1
1567	150	D G M	CB	'n	40 66	0 20	1	1569	150	7 GM	N	N	121 61	0 20	1
1560	150	A CM		С 17	110.00	0.20	1	T200	109	A'SIN	TN	τN	101.01	0.20	Ŧ
LJOA	TDA	ASN	ирд	IN	112.00	0.20	T								

## 10.1.2 Chemische Verschiebungen von Gly m 4

1	1	GLY	HA2	H	3.88	0.02	1	2	1	GLY	HA3	H	3.88	0.02	1
3	1	GLY	C	C	179.15	0.20	1	4	1	GLY	CA	C	43.49	0.20	1
5	2	VAL VAL	л ИВ	л Ц	0.30	0.02	1	8	2	VAL VAL	HA HG1	л Н	4.03	0.02	2
9	2	VAL	HG2	H	0.73	0.02	2	10	2	VAL	C	C	174.33	0.20	1
11	2	VAL	CA	С	62.21	0.20	1	12	2	VAL	CB	C	33.66	0.20	1
13	2	VAL	CG1	С	21.39	0.20	2	14	2	VAL	CG2	С	21.36	0.20	2
15	2	VAL	N	Ν	120.61	0.20	1	16	3	PHE	Н	Η	8.97	0.02	1
17	3	PHE	HA	H	4.72	0.02	1	18	3	PHE	HB2	H	3.11	0.02	2
21	3	PHE	HB3	H	2.94	0.02	2	20	3	PHE	HDI UF1	H	7.35	0.02	1
2⊥ 23	2	PHE	HE2	н	7 38	0.02	1	22	2	PHE	С	С	174 29	0.02	1
25	3	PHE	CA	C	57.08	0.20	1	26	3	PHE	СВ	C	41.92	0.20	1
27	3	PHE	N	Ν	128.89	0.20	1	28	4	THR	Н	Η	8.38	0.02	1
29	4	THR	HA	Η	5.57	0.02	1	30	4	THR	HB	Н	3.84	0.02	1
31	4	THR	HG2	H	1.03	0.02	1	32	4	THR	C	C	173.53	0.20	1
33	4	THR	CA CC2	C	61.18 21 66	0.20	1	34	4	THR	CB	C N	/U./L 118 94	0.20	1
37	5	PHE	UG2 H	н	9 10	0.20	1	38	5	PHE	НΔ	H	4 88	0.20	1
39	5	PHE	HB2	H	3.27	0.02	2	40	5	PHE	HB3	H	2.95	0.02	2
41	5	PHE	HD1	Η	7.19	0.02	1	42	5	PHE	HD2	Η	7.19	0.02	1
43	5	PHE	HE1	Н	7.13	0.02	1	44	5	PHE	HE2	Η	7.13	0.02	1
45	5	PHE	C	C	173.29	0.20	1	46	5	PHE	CA	C	56.66	0.20	1
47	5	GLU	ч	с н	41.70	0.20	1	40 50	5	GLU	IN H D	IN H	123.59 5 42	0.20	1
51	6	GLU	HB2	H	1.98	0.02	2	52	6	GLU	HB3	H	1.95	0.02	2
53	6	GLU	HG2	Н	2.21	0.02	1	54	6	GLU	HG3	Н	2.21	0.02	1
55	б	GLU	С	С	174.89	0.20	1	56	6	GLU	CA	С	54.90	0.20	1
57	6	GLU	CB	С	33.47	0.20	1	58	6	GLU	CG	С	36.61	0.20	1
59	6	GLU	N	N	121.18	0.20	1	60	7	ASP	H	H	9.29	0.02	1
63	7	ASP	HA HB3	л Ц	2 53	0.02	2	64	7	ASP	пв∠ С	С	175 04	0.02	1
65	7	ASP	CA	C	52.57	0.20	1	66	7	ASP	СВ	C	45.44	0.20	1
67	7	ASP	N	N	123.50	0.20	1	68	8	GLU	н	Н	9.01	0.02	1
69	8	GLU	HA	Η	4.88	0.02	1	70	8	GLU	HB2	Η	2.10	0.02	2
71	8	GLU	HB3	H	1.96	0.02	2	72	8	GLU	HG2	Н	2.34	0.02	1
75	8	GLU	HG3	H	2.34	0.02	1	74	8	GLU	C	C	1/6.13	0.20	1
77	8	GLU	CG	c	36.40	0.20	1	78	8	GLU	N	N	121.18	0.20	1
79	9	ILE	H	H	7.97	0.02	1	80	9	ILE	HA	H	4.05	0.02	1
81	9	ILE	HB	Η	1.15	0.02	1	82	9	ILE	HG12	Η	1.20	0.02	2
83	9	ILE	HG13	Η	0.71	0.02	2	84	9	ILE	HG2	Η	0.57	0.02	1
85	9	ILE	HD1	H	0.60	0.02	1	86	9	ILE	C	C	174.80	0.20	1
89 89	9	TLE	CA CG1	C	27 61	0.20	1	00 90	9	TLE	CB CG2	C	40.24	0.20	1
91	9	ILE	CD1	C	13.67	0.20	1	92	9	ILE	N	N	122.70	0.20	1
93	10	ASN	Н	Н	8.53	0.02	1	94	10	ASN	HA	Н	5.22	0.02	1
95	10	ASN	HB2	Η	2.71	0.02	2	96	10	ASN	HB3	Η	2.66	0.02	2
97	10	ASN	HD21	H	7.69	0.02	2	98	10	ASN	HD22	H	6.94	0.02	2
99 101	10	ASN	CP	C	1/3./5 41 66	0.20	1	100	10	ASN	CA	C	53.22 177 32	0.20	1
103	10	ASN	N	N	123.87	0.20	1	102	10	ASN	ND2	N	113.42	0.20	1
105	11	SER	Н	Н	8.54	0.02	1	106	11	SER	HA	Н	5.25	0.02	1
107	11	SER	HB2	Η	4.00	0.02	2	108	11	SER	HB3	Η	3.51	0.02	2
109	11	SER	CA	C	55.22	0.20	1	110	11	SER	CB	C	66.96	0.20	1
113	12	DRO	N HB2	N H	11/.13 2 40	0.20	2	112 114	12 12	PRO	HA HB3	н ч	4.73	0.02	2
115	12	PRO	HG2	H	2.08	0.02	2	116	12	PRO	HG3	H	1.90	0.02	2
117	12	PRO	HD2	Н	3.98	0.02	2	118	12	PRO	HD3	Н	3.88	0.02	2
119	12	PRO	С	С	176.95	0.20	1	120	12	PRO	CA	С	63.38	0.20	1
121	12	PRO	CB	C	32.37	0.20	1	122	12	PRO	CG	C	27.42	0.20	1
125	13	VAL.	СD НД	С Н	3 83	0.20	1	124	13 13	VAL VAL	H HB	н ч	1 95	0.02	1
127	13	VAL	HG1	Н	0.92	0.02	2	128	13	VAL	HG2	н	1.17	0.02	2
129	13	VAL	С	С	174.36	0.20	1	130	13	VAL	CA	С	62.87	0.20	1
131	13	VAL	CB	С	31.90	0.20	1	132	13	VAL	CG1	С	22.86	0.20	2
133	13	VAL	CG2	C	22.44	0.20	2	134	13	VAL	N	N	120.83	0.20	1
135 127	14	ALA	H UD	H U	8.65	0.02	1	130 120	14	ALA	HA	Н	4.43	0.02	1
139	14	ALA	СВ	С	17.85	0.20	1	140	14	ALA	N	N	130.49	0.20	1
141	15	PRO	HA	H	4.46	0.02	1	142	15	PRO	HB2	Н	2.09	0.02	2
143	15	PRO	HB3	Н	1.87	0.02	2	144	15	PRO	HG2	Η	2.05	0.02	2
145	15	PRO	HG3	H	1.98	0.02	2	146	15	PRO	HD2	H	3.76	0.02	1
147 140	15 15	PRO	HD3	Н	3.76	0.02	⊥ 1	148	15 15	PRO PRO	CP	C	1/8.41 21 76	0.20	1
151	15 15	PRO	CG	C	27 36	0.20	⊥ 1	150 152	15 15	PRO	CD	C	31.70 49.96	0.20	⊥ 1
153	16	ALA	H	H	8.54	0.02	ī	154	16	ALA	HA	H	4.10	0.02	i
155	16	ALA	HB	н	1.50	0.02	1	156	16	ALA	С	С	180.66	0.20	1
157	16	ALA	CA	С	55.48	0.20	1	158	16	ALA	СВ	С	18.19	0.20	1
159 161	16	ALA	N un	N	117.19	0.20	1	160	17	THR	H up	H	7.04	0.02	1
163	⊥/ 17	тнк тир	пА НСЭ	н ч	4.UI 1 44	0.02	⊥ 1	162 164	⊥/ 17	тир	пв С	н С	4.⊥/ 174 60	U.U∠ 0 20	⊥ 1
165	17	THR	CA	C	66.22	0.20	1	166	17	THR	Св	č	68.96	0.20	1
167	17	THR	CG2	Ĉ	23.53	0.20	1	168	17	THR	N	Ň	115.87	0.20	1
169	18	LEU	Н	Н	8.15	0.02	1	170	18	LEU	HA	Н	3.79	0.02	1
171	18	LEU	HB2	H	1.71	0.02	2	172	18	LEU	HB3	H	1.39	0.02	2
+ 1.3	ΤQ	பப்ப		п	1.34	0.02	1	⊥/4	±σ	1151			U.8/	0.04	Z.

$\begin{array}{c} 177.3\\ 24.6\\ 24.6\\ 122.4\\ 3.6\\ 6.9\\ 122.4\\ 6.9\\ 122.4\\ 6.9\\ 122.4\\ 6.9\\ 122.4\\ 6.9\\ 122.4\\ 12$
C CB1 N HA HB3 HD2 CA N HA3 HD3 HCA CCB CCB HB3 HCA CCB CCB HB3 HCA CCB CCB HB3 HCA CCB CCB HB3 HCA CCB CCB HB3 HCA CCB CCB N HA3 HCA CCB CCB N HA HCA CCB CCB N HA HCA CA N HA3 HCA CA CCB CCB HCA CA N HA3 HCA CA CCB CCB HCA CA N HA3 HCA CA CCB CCB HCA CA N HA3 HCA CA CCB CCB HCA CA N HA3 HCA CA CCB CCB HCA HCA CA CCB CCB HCA HCA CA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB CCB HCA HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA HCA CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB HCA HCA CCB CCB CCB CCB CCB HCA HCA HCA CCB CCB CCB CCB CCB CCB CCB CCB CCB C
LEU LEU LYR TYR TYR LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS
$\begin{array}{c} 18\\ 18\\ 18\\ 19\\ 19\\ 19\\ 19\\ 19\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20$
2 1 1 2 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1
0.02 0.20 0.20 0.20 0.02 0.02 0.20 0.20
0.70 58.02 26.80 22.75 8.70 3.07 6.90 176.71 39.86 7.56 2.12 1.35 1.64 2.81 177.26 33.08 30.29 117.90 3.88 176.14 20.97 7.59 1.42 1.63 0.74 23.24 7.71 1.63 0.74 23.24 7.71 1.05 -0.47 63.93 20.86 11.33 65.52 22.35 9.77 2.72 177.20 43.73 6.67 1.13 5.74
НСССННННССНННННСССИНССННННССССННННССИННССННССННА
HD2 CA CG CD HB1 HD1 HC CB HB22 CB CD HAC CB HB2 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB CB HB22 CB CB CB CB HB22 CB CB CB CB HB22 CB CB CB CB HB22 CB CB CB HB22 CB CB CB HB22 CB CB CB CB HB22 CB CB CB CB HB22 CB CB CB HB22 CB CB CB HB22 CB CB HB22 CB CB CB HB22 CB CB HB22 CB CB HB22 CB CB CB HB22 CB HB22 CB CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB HB22 CB CB HB22 CB CB HB22 CB CB CB CB CB CB CB CB CB CB CB CB CB
LEU LEU LEU TYR TYR TYR TYR LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS
$\begin{array}{c} 18\\ 18\\ 18\\ 19\\ 19\\ 19\\ 19\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20\\ 20$
$\begin{array}{c} 175\\ 177\\ 179\\ 183\\ 185\\ 191\\ 193\\ 192\\ 203\\ 207\\ 209\\ 211\\ 215\\ 222\\ 222\\ 222\\ 223\\ 223\\ 233\\ 241\\ 244\\ 245\\ 255\\ 255\\ 255\\ 255\\ 255\\ 263\\ 263\\ 265\\ 263\\ 265\\ 265\\ 265\\ 265\\ 265\\ 265\\ 265\\ 265$

$\begin{array}{c} 53.91\\ 27.11\\ 24.49\\ 8.75\\ 176.66\\ 40.71\\ 8.21\\ 174.40\\ 63.30\\ 7.71\\ 176.50\\ 174.38\\ 1.57\\ 2.87\\ 175.50\\ 28.56\\ 123.96\\ 4.44\\ 3.78\\ 1.57\\ 2.87\\ 175.50\\ 28.56\\ 123.96\\ 4.44\\ 3.78\\ 109.85\\ 5.14\\ 1.02\\ 172.98\\ 34.71\\ 19.60\\ 8.36\\ 1.99\\ 2.11\\ 174.53\\ 22.48\\ 95.14\\ 1.02\\ 172.98\\ 34.71\\ 19.60\\ 61.94\\ 2.11\\ 174.53\\ 32.61\\ 1.02\\ 122.98\\ 34.71\\ 19.60\\ 61.94\\ 2.11\\ 174.53\\ 32.61\\ 1.02\\ 122.98\\ 34.71\\ 19.60\\ 61.94\\ 2.11\\ 174.53\\ 32.61\\ 1.02\\ 122.98\\ 34.72\\ 109.85\\ 5.14\\ 1.02\\ 1.0$
СССННССННКСИНННИССНННННИСССИННСИННСССИННИССИННИССИННИСССИНИССИНИИССИНСИН
CCG CD HBC CB HBD11 CB DA BA CN A HC CB CH HBC CB NABHCC CD NABC CB CB A 32 CCG CD HBC CB HBD11 CB CB CB CN A BC CB CB A 32 CB CB C
LEUU LEUU ASPP ASPP SERR SERR PHE PHE PHE PHE LYSS SERR VAL LYSS SERR VAL LYSS SERR VAL LYSS SERR VAL LYSS SERR VAL VAL VAL VAL VAL VAL VAL VAL VAL VAL
4445555566666777777888888888889999900000111111112222222333334444444445556666666677788899999900001111112222
358 362 3668 377 3778 382 380 399 400 4068 412 468 422 422 422 422 422 422 422 422 422 42
$1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\$
$\begin{array}{c} 176.21\\ 43.33\\ 24.49\\ 118.36\\ 4.41\\ 2.74\\ 56.47\\ 126.31\\ 4.42\\ 4.07\\ 58.30\\ 111.74\\ 4.13\\ 7.03\\ 7.10\\ 59.97\\ 123.37\\ 1.57\\ 2.87\\ 7.287\\ 2.87\\ 7.287\\ 2.4.13\\ 4.137\\ 1.57\\ 2.87\\ 56.23\\ 24.13\\ 4.98\\ 7.28\\ 3.78\\ 10.57\\ 2.87\\ 56.23\\ 24.13\\ 4.98\\ 7.28\\ 3.78\\ 1.57\\ 2.87\\ 7.28\\ 7.103\\ 65.26\\ 8.73\\ 2.15\\ 24.13\\ 4.98\\ 7.28\\ 3.78\\ 1.99\\ 65.26\\ 8.73\\ 2.15\\ 24.13\\ 4.98\\ 7.28\\ 3.78\\ 1.99\\ 65.26\\ 8.73\\ 2.15\\ 2.15\\ 4.57\\ 2.00\\ 0.89\\ 2.80\\ 1.90\\ 2.80\\ 1.90\\ 2.80\\ 4.77\\ 37.39\\ 123.27\\ 9.08\\ 2.00\\ 0.89\\ 63.95\\ 21.72\\ 1.96\\ 4.54\\ 1.90\\ 2.28\\ 1.90\\ 8.54\\ 1.90\\ 2.28\\ 1.90\\ 3.46\\ 4.53\\ 2.90\\ 8.54\\ 1.99\\ 3.46\\ 4.53\\ 2.90\\ 1.4.30\\ 8.56\\ 1.75\\ 1.39.93\\ 114.30\\ 8.56\\ 1.75\\ 1.55\\ 1.55\\ 1.55\\ 1.53\\ 4.56\\ 1.77\\ 1.7.6\\ 1.77\\ 1.7.7\\ 1.03\\ 1.4.30\\ 8.56\\ 1.77\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.75\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.55\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.75\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.55\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.75\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.55\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.75\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.55\\ 1.55\\ 1.86\\ 1.55\\ $
СССЛННСИННСИНННИСИНННННСССНННССИНННССИНННССИНННССИНННССИНННСИНННССИННИИННИИННИИНННСССИНИИННИССИННИИ
C CB C D N A HB A N A HB A C N A HB 3 3 3 3 3 C C E HB C C B HB C C C N A HB C C C N A HB C C C N A HB C C C C H HC C C H HB C C C N A A H A C A H A
LEUU LEUP AASPP ASSER SERR SERR SERR SERR SERR SERR SER
3444555566666777777788888888899999000001111112222222233333566666666677788888999999000011111222
33333333333333333333333444444444444444

$\begin{array}{c} 0.20 & 1 \\ 0.20 & 1 \\ 0.20 & 1 \\ 0.02 & 1 \\ 0.02 & 1 \\ 0.02 & 1 \\ 0.02 & 1 \\ 0.02 & 1 \\ 0.02 & 1 \\ 0.20 & 1 \\ 0.20 & 1 \\ 0.20 & 1 \\ 0.20 & 1 \\ 0.20 & 1 \\ 0.02 & 2 \\ 0.02 & 2 \\ 0.02 & 2 \\ 0.02 & 1 \\ 0.02$
ССССННННННССССИННННССССИНННИСССИННННСССИНННИНСССИНННИНСССИННИНН
CA CG1 CA CG1 CA CG1 CA CG1 CA CG1 CA CG1 CA CA CG1 CA
ILE ILL LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS L
522233333333444444455555555666666777777888888889999990000111222223333344444
55555555555555555555555555555555555555
1         1 <td< td=""></td<>
0.20 0.20 0.20 0.20 0.20 0.02
$\begin{array}{c} 174.92\\ 39.44\\ 17.71\\ 126.01\\ 126.02\\ 1.60\\ 1.59\\ 2.83\\ 54.55\\ 24.74\\ 41.43\\ 9.38\\ 1.73\\ 1.023\\ 2.17\\ 176.14\\ 35.78\\ 1.23\\ 2.17\\ 176.14\\ 35.78\\ 1.23\\ 2.95\\ 1.23\\ 9.51\\ 1.45\\ 7.5\\ 2.95\\ 1.23\\ 9.90\\ 18.11\\ 132.52\\ 1.13\\ 62.09\\ 21.92\\ 8.95\\ 2.85\\ 6.90\\ 7.03\\ 55.68\\ 124.24\\ 8.95\\ 2.85\\ 6.90\\ 7.03\\ 55.68\\ 124.24\\ 8.95\\ 2.85\\ 6.90\\ 7.03\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 9.95\\ 2.85\\ 6.90\\ 7.03\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 9.95\\ 2.85\\ 6.90\\ 7.03\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 9.85\\ 6.90\\ 7.03\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 9.85\\ 6.90\\ 7.03\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 9.89\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 9.89\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 9.89\\ 55.68\\ 1.52\\ 0.73\\ 1.69\\ 1.52\\ 1.52\\ 1.52\\ 1.52\\ 1.52\\ 1.52\\ 1.28\\$
СССИНННННСССННННННСССИННННСССИНННИНСИННННСССИННННССННССННСИНННССИННССИНННССИННН
C CB C2 N A BBG3 3 A C C B C2 C C B A C2 C C C N A BG2 C C B C2 C N A BG2 C C B C2 C N A BG2 C C B A C2 C C C C N A BG2 C C B A C2 C C C N A BG2 C C C C N A BG2 C C C N A
ILE ILE ILE LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS LYS
522223333333444444444455555555555555555
53555555555555555555555555555555555555

1211212121111221111111111111111111111
$\begin{array}{c} 1.59\\ 0.87\\ 53.19\\ 27.25\\ 23.68\\ 9.46\\ 3.08\\ 6.99\\ 174.27\\ 34.75\\ 10.03\\ 1.96\\ 2.85\\ 176.53\\ 36.79\\ 29.97\\ 124.22\\ 4.13\\ 1.64\\ 0.97\\ 175.86\\ 36.36\\ 17.33\\ 128.05\\ 4.75\\ 1.68\\ 2.17\\ 57.25\\ 33.34\\ 8.12\\ 3.81\\ 172.00\\ 64.63\\ 8.57\\ 1.90\\ 1.18\\ 2.02\\ 3.81\\ 172.00\\ 64.63\\ 8.57\\ 1.90\\ 1.18\\ 2.39\\ 2.75\\ 176.07\\ 40.80\\ 9.13\\ 2.11\\ 2.39\\ 179.48\\ 2.75\\ 176.07\\ 40.80\\ 9.13\\ 2.11\\ 2.39\\ 179.48\\ 39.60\\ 11.75\\ 7.60\\ 1.28\\ 9.11\\ 3.28\\ 4.06\\ 178.51\\ 18.54\\ 4.06\\ 179.48\\ 2.75\\ 176.07\\ 40.80\\ 9.13\\ 2.71\\ 1.28\\ 0.42\\ 55.80\\ 1.28\\ 1.23\\ 1.28\\ 1.23\\ 1.28\\ 1.32\\ 1.32\\$
нносоннносннннносолиннносонннноснносннносоннноснннос
HDDACCCL HBDC CB HBGD2 2 2 2 3 3 3 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5
LEUU LEUU LEUU HISS HISS LYSS LYSS LYSS LYSS LYSS LYSS LYSS L
677777888889999999990000011111122222333377777777777777777777
$\begin{array}{c} 7118\\ 7122\\ 7224\\ 7330\\ 7344\\ 8024\\ 68024$
2211211211122111112111111112111122111111
0.02 0.20
$\begin{array}{c} 1.23\\ 0.99\\ 175.96\\ 44.82\\ 25.87\\ 124.23\\ 6.13\\ 2.94\\ 7.19\\ 52.47\\ 124.85\\ 5.58\\ 1.54\\ 0.94\\ 1.56\\ 2.85\\ 53.91\\ 25.31\\ 42.18\\ 9.33\\ 2.24\\ 1.58\\ 0.93\\ 61.88\\ 9.33\\ 2.24\\ 1.58\\ 0.93\\ 61.88\\ 9.33\\ 10.97\\ 9.00\\ 2.00\\ 2.00\\ 2.00\\ 2.00\\ 129.81\\ 4.61\\ 3.81\\ 91.24\\ 4.47\\ 1.64\\ 174.07\\ 42.62\\ 177.37\\ 121.57\\ 1.256\\ 51.66\\ 127.37\\ 121.57\\ 1.256\\ 51.66\\ 127.37\\ 2.56\\ 51.66\\ 127.37\\ 2.56\\ 51.66\\ 127.37\\ 1.26\\ 1.64\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.44\\ 1.48\\ 5.11\\ 2.33\\ 60.17\\ 38.44\\ 1.48\\ 1.44\\ 1.66\\ 51.65\\ 5.59\\ 2.87\\ 1.66\\ 1.5\\ 5.58\\ 33.13\\ 7.14\\ 6.66\\ 55.88\\ 125.88\\ 32.87\\ 1.5\\ 1.64\\ 3.78\\ 1.64\\ 1.64\\ 1.64\\ 1.64\\ 1.64\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.16\\ 1.64\\ 1.64\\ $
нносоиннносинннносонннносонннносиннносоннносоинносинносинносинныссоинносоинсиннносоннынног
HB31 C CBCD NHAB31 HCA NHAB33 HCA
LEUU LEUS SUSSER SEEREELEELEE SPPPPULUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU
677777788888999999900000111111122222333333344445555556666777777788888889999990000811112222233
777777777777777777777777777777777777
005
------------
895
897
899
901
903
905
907
909
Q11
911
913
915
917
919
921
923
925
027
020
929
931
933
935
937
939
941
943
945
947
949
951
052
202 0FE
955
957
959
961
963
965
967
969
971
973
975
975
977
9/9
981
983
985
987
989
991
993
995
997
999
1001
1003
1005
1005
1007
1011
1011
1013
1015
1017
1019
1021
1023
1025
1027
1029
1031
1033
1035
1037
1039
1041
1042
1045
1045
1047
1049
1051
1053
1055
1057
1059
1061
1063
1065
1067
1060
1071
1072
10/3

1075	100	1 110			F 1 2	0 00	1	1000	100	1 110			1 0 7	0 00	~
1075	102	LYS	HA	Н	5.13	0.02	T	1076	102	LYS	HB2	Н	1.87	0.02	2
10.7.7	102	LYS	HB3	Н	1.83	0.02	2	10.48	102	LYS	HG2	Н	1.50	0.02	2
1079	102	LYS	HG3	Н	1.39	0.02	2	1080	102	LYS	HD2	Н	1.67	0.02	1
1081	102	LYS	HD3	н	1.67	0.02	1	1082	102	LYS	HE2	Н	2.96	0.02	1
1083	102	LYS	HE 3	Η	2.96	0.02	1	1084	102	LYS	С	С	175.30	0.20	1
1085	102	LYS	CA	С	56.21	0.20	1	1086	102	LYS	CB	Ċ	35 33	0.20	1
1087	102	LYS	CG	č	25 15	0 20	1	1088	102	LYS	CD	Ĉ	29 26	0 20	1
1000	102	TVC	CU CF	c	12 10	0.20	1	1000	102	TVC	N	N	124 75	0.20	1
1009	102			U U	42.10	0.20	1	1090	102		IN TT 7		IZ4.75	0.20	1
1091	103	LEU	H	H	8.11	0.02	T	1092	103	LEU	HA	н	5.28	0.02	T
1093	103	LEU	HB2	Н	2.10	0.02	2	1094	103	LEU	HB3	Н	1.48	0.02	2
1095	103	LEU	HG	Н	2.03	0.02	1	1096	103	LEU	HD1	Н	1.18	0.02	2
1097	103	LEU	HD2	Η	1.03	0.02	2	1098	103	LEU	С	С	175.65	0.20	1
1099	103	LEU	CA	С	54.24	0.20	1	1100	103	LEU	CB	С	45.10	0.20	1
1101	103	LEU	CG	С	27.71	0.20	1	1102	103	LEU	CD1	С	26.74	0.20	2
1103	103	T.FT	CD2	ĉ	24 14	0 20	2	1104	103	1.11	N	N	124 46	0 20	1
1105	104	VΔT.	ч	ਸ	8 51	0.02	1	1106	104	VAT.	ЧΔ	ч	4 56	0.02	1
1107	101			11	2 20	0.02	1	1100	104		1101	11 TT	1.50	0.02	2
1107	104	VAL	HB	H	2.20	0.02	T	1110	104	VAL	HGI	н	174 60	0.02	2
1109	104	VAL	HGZ	н	0.75	0.02	2	1110	104	VAL	C	C	1/4.68	0.20	T
	104	VAL	CA	C	59.14	0.20	T	1112	104	VAL	CB	C	36.16	0.20	T
1113	104	VAL	CG1	С	21.97	0.20	2	1114	104	VAL	CG2	С	19.35	0.20	2
1115	104	VAL	Ν	Ν	114.82	0.20	1	1116	105	ALA	Н	Н	8.47	0.02	1
1117	105	ALA	HA	Η	4.43	0.02	1	1118	105	ALA	HB	Н	1.49	0.02	1
1119	105	ALA	С	С	178.36	0.20	1	1120	105	ALA	CA	С	53.48	0.20	1
1121	105	ALA	CB	С	18.58	0.20	1	1122	105	ALA	Ν	Ν	123.92	0.20	1
1123	106	GLY	Н	н	8.33	0.02	1	1124	106	GLY	HA2	Н	4.39	0.02	2
1125	106	GLY	HA3	н	3.56	0.02	2	1126	106	GLY	CA	C	43.69	0.20	1
1127	106	GLV	N	N	110 97	0 20	1	1128	107	DRO	НΣ	ਸ	4 39	0 02	1
1120	107		UD2	U U	2 31	0.20	2	1120	107	DPO	102	ц Ц	1 01	0.02	2
1121	107		1102	и П	2.51	0.02	1	1122	107	DBO		ц Ц	2 05	0.02	1
⊥⊥J⊥ 1122	107	PRO		п т	2.00	0.04	1 1	1124	107	PRU	2 2 2 2	r1 **	2.00	0.02	⊥ 1
1125	107	PRO	HDZ	Н	3./2	0.02	4	1134	107	PRO	нрз	н	3.62	0.02	2
1135	T0.1	PRO	C	C	177.74	0.20	Ţ	1136	T0.1	PRO	CA	C	64.27	0.20	Ţ
1137	107	PRO	CB	С	32.05	0.20	1	1138	107	PRO	CG	С	27.35	0.20	1
1139	107	PRO	CD	С	49.82	0.20	1	1140	108	ASN	Н	Н	8.84	0.02	1
1141	108	ASN	HA	Η	4.79	0.02	1	1142	108	ASN	HB2	Н	3.01	0.02	2
1143	108	ASN	HB3	н	2.70	0.02	2	1144	108	ASN	HD21	Н	7.66	0.02	2
1145	108	ASN	HD22	н	6.93	0.02	2	1146	108	ASN	С	С	175.39	0.20	1
1147	108	ASN	CA	С	53.00	0.20	1	1148	108	ASN	CB	С	38.46	0.20	1
1149	108	ASN	CG	C	178.24	0.20	1	1150	108	ASN	N	N	116.92	0.20	1
1151	108	AGN	ND2	N	113 34	0 20	1	1152	109	CL.V	н	н	7 83	0 02	1
1153	100	CLV	UN 2	ц Ц	4 38	0.20	2	1154	109	CLV	11 11 11	ц Ц	2 83	0.02	2
1100	109	GLI	naz a	п	174 50	0.02	1	1154	109	GLI	CAD	п	45 22	0.02	1
1100	109	GLI	L NT	C NT	107 04	0.20	1	1150	110	GLI	CA	C TT	45.34	0.20	1
1157	109	GLI	IN III O	IN	107.04	0.20	T	1158	110	GLI	H	н	7.89	0.02	T
1159	110	GLY	HA2	н	4.04	0.02	2	1160	110	GLY	HA3	Н	3.90	0.02	2
1161	110	GLY	C	С	174.87	0.20	T	1162	110	GLY	CA	C	44.94	0.20	T
1163	110	GLY	N	Ν	107.04	0.20	1	1164	111	SER	H	Н	9.43	0.02	1
1165	111	SER	HA	Η	5.30	0.02	1	1166	111	SER	HB2	Н	3.78	0.02	2
1167	111	SER	HB3	н	3.66	0.02	2	1168	111	SER	С	С	173.18	0.20	1
1169	111	SER	CA	С	59.76	0.20	1	1170	111	SER	CB	С	67.01	0.20	1
1171	111	SER	Ν	Ν	118.71	0.20	1	1172	112	ALA	Н	Н	9.22	0.02	1
1173	112	ALA	HA	Н	5.24	0.02	1	1174	112	ALA	HB	Н	1.44	0.02	1
1175	112	AT.A	С	С	175.54	0.20	1	1176	112	AT.A	CA	С	50.38	0.20	1
1177	112	AT.A	CB	č	21 76	0 20	1	1178	112	ΔΤ.Δ	N	N	129 39	0 20	1
1179	112	CT.V	ч	ਸ	7 91	0.02	1	1180	113	CT.V	нд 2	ч	5 00	0.02	2
1101	112	CIV	11 1172	и 11	1 1 2	0.02	2	1100	112	CIV	C	C	172 02	0.02	1
1101	112	CLU	CAD CD	п	4.14	0.02	1	1104	112	GLI	N	N	104 02	0.20	1
1105	114	GLI	CA	C T	45.22	0.20	1	1104	114	GLI	IN	11	104.02	0.20	1
1105	114	LIS	H	H	8.40	0.02	1	1180	114	LIS	HA	н	4.92	0.02	1
1187	114	LYS	HBZ	н	1.76	0.02	T	1188	114	LYS	HB3	н	1.76	0.02	T
1189	114	LYS	HG2	н	1.44	0.02	2	1190	114	LYS	HG3	Н	1.36	0.02	2
1191	114	LYS	HD2	Ĥ	1.67	0.02	2	1192	⊥14	LYS	HD3	Н	1.59	0.02	2
1193	114	LYS	HE2	Н	2.92	0.02	1	1194	114	LYS	HE3	Н	2.92	0.02	1
1195	114	LYS	С	С	174.28	0.20	1	1196	114	LYS	CA	С	55.38	0.20	1
1197	114	LYS	CB	С	35.88	0.20	1	1198	114	LYS	CG	C	24.62	0.20	1
1199	114	LYS	CD	С	29.04	0.20	1	1200	114	LYS	CE	С	42.00	0.20	1
1201	114	LYS	N	Ν	120.93	0.20	1	1202	115	LEU	Н	Н	8.76	0.02	1
1203	115	LEU	HA	Н	5.21	0.02	1	1204	115	LEU	HB2	н	1.62	0.02	2
1205	115	LEU	HB3	Η	1.19	0.02	2	1206	115	LEU	HG	н	1.41	0.02	1
1207	115	LEU	HD1	Н	0.82	0.02	2	1208	115	LEU	HD2	н	0.89	0.02	2
1209	115	LEU	C	C	175.13	0.20	1	1210	115	LEU	CA	С	53.45	0.20	1
1211	115	I'EII	CB	Ĉ	45.04	0.20	1	1210	115	I'EII	CG	č	27.60	0.20	1
1212	115	T.EII	נם)	č	26 03	0 20	2	1014	115	LEII	CD2	C	24 00	0 20	2
1215	115		N	NT	120.05	0.20	1	1016	116	TUD	Ч	ъ	Q //	0 00	1
1017	116	U פות רינוידי	ПУ 11	TI IN	1 0.49	0.20	1	1010	116	TUD	ПD 11	г1 17	2.44 1 01	0.02	1
1010	110	TUR	пА	п ,,	4.90	0.02	1	1218	110	TUR	пв	п	4.UL	0.02	1
1227	110	THR	нGZ	H	1.12	0.02	1	1220	110	THR	C'	Ċ	1/3.30	0.20	1
1221	116	THR	CA	C	62.43	0.20	Ţ	1222	116	THR	CB	C	/0.21	0.20	Ţ
1223	116	THR	CG2	С	22.01	0.20	1	1224	116	THR	Ń	N	123.55	0.20	1
1225	117	VAL	H	Η	9.19	0.02	1	1226	117	VAL	HA	Н	4.59	0.02	1
1227	117	VAL	HB	Η	1.49	0.02	1	1228	117	VAL	HG1	Н	0.74	0.02	2
1229	117	VAL	HG2	Η	0.48	0.02	2	1230	117	VAL	С	С	174.49	0.20	1
1231	117	VAL	CA	С	60.71	0.20	1	1232	117	VAL	CB	С	33.52	0.20	1
1233	117	VAL	CG1	С	21.32	0.20	2	1234	117	VAL	CG2	С	21.30	0.20	2
1235	117	VAL	N	N	128.31	0.20	1	1236	118	LYS	Н	Ĥ	8.98	0.02	1
1237	118	LYS	НА	н	5.01	0.02	1	1238	118	LYS	HB2	н	1.55	0.02	2
1239	118	LYS	HR3	н	1 50	0.02	2	1230	118	LYS	HG2	н	1 22	0.02	1
1241	112	T.VG	HG3	ц	1 22	0 02	1	1040	110	T.AG	HU3	ц	1 52	0 02	1
⊥⊿≒⊥ 1947	110 110	T AG	כייד כייי	п U	1 E 2	0.02	1 1	1011 1011	110	L'AG TTD	1152 7011	ri U	1.33 0.75	0.02	1
1045	110	LID	כעת כייים	п 17	1.33	0.02	1	1046	110	LID	пь2	п	4.13	0.02	1
1047	110	112	пь з	п	4./5	0.02	1	1240	110	112		C C	1/4.40	0.20	1
1247	110	LYS	CA	C	54.74	0.20	1	1248	110	LYS	CB	C	34.30	0.20	1
1249	118	LYS	CG	C	25.13	0.20	1	1250	118	LYS	CD	C	29.45	0.20	1
1251	118	LYS	CE	С	41.79	0.20	1	1252	118	LYS	N	Ν	126.07	0.20	1
1253	119	TYR	Н	Н	9.87	0.02	1	1254	119	TYR	HA	Н	4.64	0.02	1

			0								0				~
1255	119	TYR	HB2	н	3.63	0.02	2	1256	119	TYR	HB3	н	2.57	0.02	2
1257	119	TYR	HD1	Н	6.87	0.02	1	1258	119	TYR	HD2	Н	6.87	0.02	1
1259	119	TYR	HE1	Н	6.58	0.02	1	1260	119	TYR	HE2	Η	6.58	0.02	1
1261	119	TYR	С	С	174.16	0.20	1	1262	119	TYR	CA	С	57.34	0.20	1
1263	119	TYR	CB	C	41.61	0.20	1	1264	119	TYR	N	N	131.66	0.20	1
1265	120	GLII	н	н	8 63	0 02	1	1266	120	GLII	НΣ	н	5 57	0 02	1
1267	120	CLU	11 11 11 2	ŭ	2 1 8	0.02	2	1268	120	CLU	11123	ŭ	1 89	0.02	2
1207	120	GLU	пва	п	2.10	0.02	1	1200	120	GLU		п	1.09	0.02	1
1209	120	GLU	HGZ	н	2.23	0.02	1	1270	120	GLU	HG3	н	2.23	0.02	1
1271	120	GLU	C	C	176.57	0.20	1	1272	120	GLU	ĊA	C	54.91	0.20	T
1273	120	GLU	СВ	С	30.92	0.20	1	1274	120	GLU	CG	С	36.23	0.20	1
1275	120	GLU	Ν	Ν	129.26	0.20	1	1276	121	THR	Н	Н	9.30	0.02	1
1277	121	THR	HA	н	4.92	0.02	1	1278	121	THR	HB	н	4.60	0.02	1
1279	121	THR	HG2	Η	1.39	0.02	1	1280	121	THR	С	С	174.80	0.20	1
1281	121	THR	CA	С	60.75	0.20	1	1282	121	THR	CB	С	70.61	0.20	1
1283	121	THR	CG2	С	23.05	0.20	1	1284	121	THR	Ν	Ν	117.65	0.20	1
1285	122	LYS	H	Ĥ	8.34	0.02	1	1286	122	LYS	HA	н	4.43	0.02	1
1287	122	LVC	11 11 11 2	ŭ	1 81	0.02	2	1288	122	LVC	1111 1112 2	U U	1 59	0.02	2
1207	122	TVC	UC2	и Ц	1 40	0.02	2	1200	122	TVC		и П	1 25	0.02	2
1209	100	110	IID 2	п	1.40	0.02	1	1290	122	113	IID 2	п	1.25	0.02	1
1291	100	LIS	HDZ	н	1.05	0.02	1	1292	122	LIS	HD3	H	1.05	0.02	1
1293	122	LIS	HEZ	н	2.92	0.02	1	1294	122	LIS	HE3	н	2.92	0.02	1
1295	122	LYS	C	C	177.53	0.20	1	1296	122	LYS	ĊA	C	56.83	0.20	T
1297	122	LYS	СВ	С	33.24	0.20	1	1298	122	LYS	CG	С	25.87	0.20	1
1299	122	LYS	CD	С	29.40	0.20	1	1300	122	LYS	CE	С	42.26	0.20	1
1301	122	LYS	N	N	120.67	0.20	1	1302	123	GLY	Н	Н	8.64	0.02	1
1303	123	GLY	HA2	н	4.00	0.02	2	1304	123	GLY	HA3	н	3.94	0.02	2
1305	123	GLY	С	С	174.04	0.20	1	1306	123	GLY	CA	С	45.96	0.20	1
1307	123	GLY	Ν	Ν	111.99	0.20	1	1308	124	ASP	Н	Н	8.52	0.02	1
1309	124	ASP	НА	н	4.78	0.02	1	1310	124	ASP	HB2	н	2.82	0.02	2
1311	124	ASP	HR3	н	2 66	0 02	2	1312	124	ASP	C	Ĉ	176 24	0 20	1
1212	124	ACD	CN	Ċ	54 03	0.02	1	1314	124	ACD	CP	ĉ	41 15	0.20	1
1215	124	AGE	N	N	101 20	0.20	± 1	1216	125	ADP AT A	ц	υ	7 60	0.20	1
1217	105	ASP	IN	11	1 21.39	0.20	1	1210	125	ALA	п	п	1.00	0.02	1
131/	125	ALA	HA	н	4.34	0.02	1	1318	125	ALA	HB	н	1.45	0.02	1
1319	125	ALA	C	C	177.32	0.20	1	1320	125	ALA	ĊA	C	52.56	0.20	T
1321	125	ALA	CB	C	19.77	0.20	1	1322	125	ALA	Ν	Ν	122.71	0.20	1
1323	126	GLU	Н	Н	8.54	0.02	1	1324	126	GLU	HA	Н	4.26	0.02	1
1325	126	GLU	HB2	н	1.83	0.02	2	1326	126	GLU	HB3	Η	1.78	0.02	2
1327	126	GLU	HG2	н	2.20	0.02	1	1328	126	GLU	HG3	н	2.20	0.02	1
1329	126	GLU	CA	С	53.61	0.20	1	1330	126	GLU	CB	С	30.15	0.20	1
1331	126	GLU	CG	С	35.85	0.20	1	1332	126	GLU	Ν	Ν	122.41	0.20	1
1333	127	PRO	HA	Ĥ	4.34	0.02	1	1334	127	PRO	HB2	н	1.55	0.02	2
1335	127	DRO	HB3	н	1 26	0 02	2	1336	127	DRO	HC2	н	1 36	0 02	2
1337	127	DRO	HC3	ч	1 19	0.02	2	1338	127	DRO	HD2	н	3 05	0.02	2
1220	107		110.5	и П	2 97	0.02	2	1240	127		0	C 11	175 01	0.02	1
1241	107	PRO		а	62.07	0.02	1	1240	127	PRO	C D	ä	21 46	0.20	1
1241	107	PRO	CA	c	02.05	0.20	1	1244	107	PRO	CB	č	31.40	0.20	1
1343	127	PRO	CG	C	27.18	0.20	1	1344	127	PRO	CD	C	49.86	0.20	1
1345	128	ASN	н	н	8.56	0.02	1	1346	128	ASN	HA	н	4.69	0.02	T
1347	128	ASN	HB2	н	3.08	0.02	2	1348	128	ASN	HB3	Н	2.83	0.02	2
1349	128	ASN	HD21	н	7.63	0.02	2	1350	128	ASN	HD22	н	7.02	0.02	2
1351	128	ASN	С	С	175.74	0.20	1	1352	128	ASN	CA	С	51.69	0.20	1
1353	128	ASN	CB	С	39.13	0.20	1	1354	128	ASN	CG	С	176.28	0.20	1
1355	128	ASN	Ν	Ν	120.20	0.20	1	1356	128	ASN	ND2	Ν	113.39	0.20	1
1357	129	GLN	Н	Н	8.66	0.02	1	1358	129	GLN	HA	Н	3.76	0.02	1
1359	129	GLN	HB2	н	2.01	0.02	1	1360	129	GLN	HB3	Н	2.01	0.02	1
1361	129	GLN	HG2	н	2.39	0.02	2	1362	129	GLN	HG3	н	2.36	0.02	2
1363	129	GLN	HE21	н	7.58	0.02	2	1364	129	GLN	HE22	н	6.72	0.02	2
1365	129	GLN	C	Ċ	177 99	0 20	1	1366	129	GLN	CA	Ĉ	59 26	0 20	1
1367	129	GLN	CB	č	28 52	0.20	1	1368	129	GLN	CC	č	34 00	0.20	1
1260	120	CIN	CD	c	170 05	0.20	1	1270	120	CIN	N	N	110 52	0.20	1
1271	120	CIN	NE 2	N	112 12	0.20	1	1272	120		IN IN	IN IN	0 10	0.20	1
1272	120	GUN	INCLZ	11	1 4 2	0.20	1	1274	120	AGP		п	0.19	0.02	1
1373	120	ASP	HA	H	4.43	0.02	1	1374	130	ASP	HB2	н	2.09	0.02	1
1375	120	ASP	нвз	н	2.69	0.02	1	1370	130	ASP	C	C	10.73	0.20	1
1377	130	ASP	ĊA	C	57.65	0.20	1	1378	130	ASP	CB	C	40.39	0.20	T
1379	130	ASP	N	N	119.42	0.20	1	1380	131	GLU	H	н	8.10	0.02	T
1381	131	GLU	HA	Ĥ	4.04	0.02	1	1382	131	GLU	HB2	H	2.12	0.02	2
1383	131	GLU	HB3	Η	1.98	0.02	2	1384	131	GLU	HG2	Η	2.32	0.02	2
1385	131	GLU	HG3	Η	2.22	0.02	2	1386	131	GLU	С	С	179.51	0.20	1
1387	131	GLU	CA	С	59.30	0.20	1	1388	131	GLU	CB	С	29.39	0.20	1
1389	131	GLU	CG	С	36.86	0.20	1	1390	131	GLU	Ν	Ν	122.11	0.20	1
1391	132	LEU	н	Η	7.70	0.02	1	1392	132	LEU	HA	Η	3.79	0.02	1
1393	132	LEU	HB2	Н	1.43	0.02	2	1394	132	LEU	HB3	Н	1.18	0.02	2
1395	132	LEU	HG	Н	1.20	0.02	1	1396	132	LEU	HD1	Н	0.37	0.02	2
1397	132	LEII	HD2	Н	0.14	0.02	2	1398	132	LEII	C	C	178.78	0.20	1
1399	132	T.EII	CA	Ċ	58 08	0 20	1	1400	132	1.ETT	CB	č	41 58	0 20	1
1401	132	טבים דוק,ד	CC	č	26 78	0 20	1	1402	132	T.FTT	CD1	č	24 90	0 20	2
1402	130	TETT	CDO	c	20.70	0.20	± 2	1404	130	T.FTT	N	N	120 21	0.20	∠ 1
1405	⊥3⊿ 133	цеО т мо		C TT	43.00	0.20	∠ 1	1404	⊥3⊿ 132	цĘО Т V O	Г1 2/ ТИ	T T	7 7 7 7 T	0.40	⊥ 1
1405	⊥33 122	LING	H	H	1.91	0.02	⊥ 1	1400	122	LIS	HA	H	3.92	0.02	1
1407	133	LYS	HB2	H	1.93	0.02	Ţ	1408	133	LYS	нвз	H	1.93	0.02	Ţ
1409	133	LYS	HG2	Η	1.55	0.02	2	1410	133	LYS	HG3	Η	1.36	0.02	2
1411	133	LYS	HD2	Η	1.66	0.02	1	1412	133	LYS	HD3	Η	1.66	0.02	1
1413	133	LYS	HE2	Η	2.94	0.02	1	1414	133	LYS	HE 3	Η	2.94	0.02	1
1415	133	LYS	С	С	179.84	0.20	1	1416	133	LYS	CA	С	59.75	0.20	1
1417	133	LYS	CB	С	32.39	0.20	1	1418	133	LYS	CG	С	25.50	0.20	1
1419	133	LYS	CD	С	29.52	0.20	1	1420	133	LYS	CE	С	41.99	0.20	1
1421	133	LYS	Ν	N	118.56	0.20	1	1422	134	THR	Н	Н	8.37	0.02	1
1423	134	THR	HA	H	4.06	0.02	1	1424	134	THR	HB	H	4.29	0.02	1
1425	134	THR	HG2	Н	1.29	0.02	1	1426	134	THR	C	C	176.60	0.20	1
1427	134	THP	CA	Ċ	66 34	0 20	1	1428	134	THP	CB	č	68 88	0 20	1
1420	124	тир	CGS	c	21 20	0.20	1 1	1420	124	тир	N	N	116 20	0.20	1 1
エ <del>ユ</del> ムダ 1 / つ 1	125		UG2	C TT	41.07 0 74	0.20	⊥ 1	1400	105			T T	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	0.40	1 1
⊥43⊥ 1422	⊥35 125	GLY	H	H	8.34	0.02	1 2	1432	135	GLY	HAZ	Н	4.11	0.02	2
⊥433	135	GLY	нАЗ	н	3.88	0.02	2	⊥434	135	GГЛ	C	C	1/5.28	0.20	T

				-											-
1435	135	GLY	CA	C	47.45	0.20	T	1436	135	GLY	N	N	109.18	0.20	T
1437	136	LYS	Н	Н	8.14	0.02	1	1438	136	LYS	HA	Н	4.31	0.02	1
1439	136	LYS	HB2	Н	2.06	0.02	2	1440	136	LYS	HB3	Н	1.93	0.02	2
1441	136	LYS	HE2	Н	2.92	0.02	1	1442	136	LYS	HE 3	Н	2.92	0.02	1
1443	136	LYS	С	С	177.30	0.20	1	1444	136	LYS	CA	С	59.04	0.20	1
1445	136	LVG	CB	ĉ	33 21	0 20	1	1446	136	LVS	CC	ĉ	25 16	0 20	1
1447	136	LVC	CD	c	29 44	0.20	1	1448	136	LVC	CF	c	41 98	0.20	1
1447	120	LIS	CD N	C NT	100 70	0.20	1	1440	127			C II	41.90	0.20	1
1449	130	LIS	IN	IN	120.72	0.20	1	1450	137	ALA	H	н	8.14	0.02	1
1451	137	ALA	HA	н	4.28	0.02	T	1452	137	ALA	нв	н	1.59	0.02	T
1453	137	ALA	С	С	181.00	0.20	1	1454	137	ALA	CA	С	55.31	0.20	1
1455	137	ALA	CB	С	18.40	0.20	1	1456	137	ALA	Ν	Ν	121.15	0.20	1
1457	138	LYS	H	Н	8.11	0.02	1	1458	138	LYS	HA	Н	4.17	0.02	1
1459	138	LYS	HB2	Η	2.09	0.02	2	1460	138	LYS	HB3	Η	1.90	0.02	2
1461	138	LYS	HG2	Н	1.63	0.02	1	1462	138	LYS	HG3	Н	1.63	0.02	1
1463	138	LYS	HD2	н	1.64	0.02	1	1464	138	LYS	HD3	н	1.64	0.02	1
1465	138	T.VG	HF2	ч	2 88	0.02	1	1466	138	LVS	HE3	ч	2 88	0.02	1
1467	120	TVC	0		170 02	0.02	1	1460	120	TVC	C71		E0 E1	0.02	1
1407	120	LIS	C OD	ä	1/0.93	0.20	1	1400	120	LIS	CA	d	20.JL	0.20	1
1469	138	LIS	CB	C	31.80	0.20	1	1470	138	LIS	CG	C	25.20	0.20	1
1471	138	LYS	CD	C	28.71	0.20	T	1472	138	LYS	CE	C	42.04	0.20	T
1473	138	LYS	N	N	117.46	0.20	T	1474	139	ALA	Н	Н	7.59	0.02	T
1475	139	ALA	HA	Н	4.12	0.02	1	1476	139	ALA	HB	Н	1.14	0.02	1
1477	139	ALA	С	С	180.06	0.20	1	1478	139	ALA	CA	С	54.78	0.20	1
1479	139	ALA	CB	С	18.59	0.20	1	1480	139	ALA	Ν	Ν	123.51	0.20	1
1481	140	ASP	Η	Η	8.44	0.02	1	1482	140	ASP	HA	Η	4.49	0.02	1
1483	140	ASP	HB2	Н	2.72	0.02	1	1484	140	ASP	HB3	Н	2.72	0.02	1
1485	140	ASP	С	С	177.69	0.20	1	1486	140	ASP	CA	С	56,10	0.20	1
1487	140	ASP	CB	ĉ	40 88	0 20	1	1488	140	ASP	N	N	119 68	0 20	1
1489	141	71.7	ц	ц	7 86	0.00	1	1490	141	71.7	UN I	U U	4 11	0.20	1
1401	141			11 TT	1 50	0.02	1	1400	1/1		0		100 72	0.02	1
1491	141	ALA	пв	п	1.50	0.02	1	1492	141	ALA	C	c	10.13	0.20	1
1493	141	ALA	CA	Ċ	55.22	0.20	1	1494	141	АЦА	CB	Ċ	T8.T3	0.20	Ţ
1495	141	ALA	N	N	121.19	0.20	T	1496	142	LEU	Н	Н	7.66	0.02	T
1497	142	LEU	HA	Н	4.03	0.02	1	1498	142	LEU	HB2	Н	1.74	0.02	2
1499	142	LEU	HB3	Н	1.62	0.02	2	1500	142	LEU	HG	Н	1.51	0.02	1
1501	142	LEU	HD1	Н	0.74	0.02	2	1502	142	LEU	HD2	Н	0.77	0.02	2
1503	142	LEU	С	С	177.46	0.20	1	1504	142	LEU	CA	С	58.41	0.20	1
1505	142	LEU	CB	С	41.62	0.20	1	1506	142	LEU	CG	С	27.25	0.20	1
1507	142	LEU	CD1	С	24.99	0.20	2	1508	142	LEU	CD2	С	24.06	0.20	2
1509	142	LEU	N	N	119.81	0.20	1	1510	143	PHE	н	н	7.85	0.02	1
1511	143	DHF	НΣ	н	2 83	0 02	1	1512	143	DHF	нв2	ч	3 28	0 02	2
1513	143	DUF	1172	ц Ц	3 1 8	0.02	2	1514	143	DUF	11D2 1	ц Ц	7 18	0.02	1
1515	142			11 TT	7 10	0.02	1	1516	142	FIID		11 TT	7.10	0.02	1
1515	143	PHE	HDZ	H	7.18	0.02	1	1510	143	PHE	HLL	н	7.20	0.02	1
1517	143	PHE	HEZ	н	7.20	0.02	1	1518	143	PHE	HZ	н	7.05	0.02	1
1519	143	PHE	C	C	177.30	0.20	T	1520	143	PHE	CA	C	62.11	0.20	T
1521	143	PHE	CB	C	39.37	0.20	T	1522	143	PHE	Ν	N	119.50	0.20	T
1523	144	LYS	Н	Н	8.68	0.02	1	1524	144	LYS	HA	Н	3.99	0.02	1
1525	144	LYS	HB2	Н	2.01	0.02	2	1526	144	LYS	HB3	Н	1.88	0.02	2
1527	144	LYS	HG2	Н	1.73	0.02	1	1528	144	LYS	HG3	Н	1.73	0.02	1
1529	144	LYS	HD2	Η	1.83	0.02	2	1530	144	LYS	HD3	Η	1.73	0.02	2
1531	144	LYS	HE2	Н	3.10	0.02	2	1532	144	LYS	HE 3	Н	3.04	0.02	2
1533	144	LYS	С	С	179.64	0.20	1	1534	144	LYS	CA	С	58.42	0.20	1
1535	144	LYS	CB	C	31.78	0.20	1	1536	144	LYS	CG	Ċ	25 27	0.20	1
1537	144	LVS	CD	č	28 40	0 20	1	1538	144	LVS	CE	Ĉ	42 24	0 20	1
1530	144	LVC	N	N	116 43	0.20	1	1540	145		U U	ц	7 96	0.20	1
1535	145		117	11	1 25	0.20	1	1540	145			11 TT	1 40	0.02	1
1541	145		ПА	п	4.40	0.02	1	1542	145	ALA	пв	п	1.40	0.02	1
1545	145	ALA	C	Č	101.10	0.20	1	1544	145	ALA	CA	C	54.90	0.20	1
1545	145	ALA	CB	C	18.11	0.20	1	1540	145	ALA	IN	IN	122.78	0.20	1
154/	146	工工匠	H	н	8.10	0.02	1	1548	146	エレビ	HA	н	3.31	0.02	T
1549	146	115	HB	Н	1.75	0.02	T	1550	146	115	HG12	Н	1.46	0.02	2
1551	146	ILE	HG13	Н	0.70	0.02	2	1552	146	ILE	HG2	Н	0.51	0.02	T
1553	146	ILE	HD1	Н	0.55	0.02	1	1554	146	ILE	С	С	177.03	0.20	1
1555	146	ILE	CA	С	65.39	0.20	1	1556	146	ILE	CB	С	36.78	0.20	1
1557	146	ILE	CG1	С	29.51	0.20	1	1558	146	ILE	CG2	С	17.60	0.20	1
1559	146	ILE	CD1	С	12.96	0.20	1	1560	146	ILE	N	N	122.00	0.20	1
1561	147	GLU	H	Η	8.64	0.02	1	1562	147	GLU	HA	н	3.47	0.02	1
1563	147	GLU	HB2	Η	2.03	0.02	2	1564	147	GLU	HB3	н	1.61	0.02	2
1565	147	GLU	HG2	Η	2.02	0.02	2	1566	147	GLU	HG3	Η	1.97	0.02	2
1567	147	GLU	С	С	177.44	0.20	1	1568	147	GLU	CA	С	60.58	0.20	1
1569	147	GLU	CB	С	30.37	0.20	1	1570	147	GLU	CG	С	36.89	0.20	1
1571	147	GLU	Ν	N	120.94	0.20	1	1572	148	ALA	Н	Н	8.22	0.02	1
1573	148	AT,A	HA	н	4,02	0.02	1	1574	148	AT.A	HB	н	1.54	0.02	1
1575	148	AT.N	C	Ċ	180 99	0 20	1	1576	148	DT.N	CA	ĉ	55 22	0 20	1
1577	149	AT V	CP	č	17 97	0.20	1	1570	149		N	N	118 20	0.20	⊥ 1
1570	1/0		U U		±1.01 7.07	0.20	1	100	1/0		11.27	11 1	1 76	0.20	1
1501	149	TIK	л up o	п 17	1.0/	0.02	1 2	1500	149	TIK	пА up ว	п 17	4.20	0.02	1
1001	149	TIK	пВ2	H	3.14	0.02	2	1582	149	TIK	пвз	H	3.02	0.02	4
1283	149	TYR	HDI	H	6.72	0.02	Ţ	1584	149	TYR	HD2	H	6.72	0.02	Ţ
1585	149	TYR	HE1	Η	6.15	0.02	1	1586	149	TYR	HE2	Η	6.15	0.02	1
1587	149	TYR	С	С	178.67	0.20	1	1588	149	TYR	CA	С	62.32	0.20	1
1589	149	TYR	CB	С	38.39	0.20	1	1590	149	TYR	N	Ν	119.97	0.20	1
1591	150	LEU	Н	Η	8.33	0.02	1	1592	150	LEU	HA	Η	3.79	0.02	1
1593	150	LEU	HB2	Н	1.87	0.02	2	1594	150	LEU	HB3	Н	1.51	0.02	2
1595	150	LEU	HG	Н	1.84	0.02	1	1596	150	LEU	HD1	Н	0.70	0.02	2
1597	150	LEU	HD2	н	0.51	0.02	2	1598	150	LEU	C -	Ċ	180.18	0.20	1
1599	150	LEII	CA	Ċ	57.97	0.20	1	1600	150	LEU	CB	č	40.91	0.20	1
1601	150	1.171	CG	č	26 93	0 20	1	1600	150	T.FTT	CD1	č	27 29	0 20	2
1602	150	טמני דוקר	CG CUJ	c	20.23	0.20	2	1602	150	0 מנים דידק.ד	N	N	122 47	0.20	∠ 1
1605	151	0 מנים דידים ד	Ч	ъ	Q 20	0.20	∠ 1	1604	151		цу ПУ	П 14	1 00	0.20	1
1607	151	니랍U T IDIT	ᇚ	п 17	0.3Z 1 75	0.02	1 2	1000	1 5 1	니쇼U T 편??	лА up ว	п 17	±.00	0.02	- 1
1600/	1 5 1	LEU	HBZ	н 77	1./5	0.02	1	1008	151	나쁘다	HB3	н 77	1.41	0.02	4
1009	151	LEU	HG	H	1.67	0.02	1	1610	151	上出U エ 〒	HDI	н	0.83	0.02	Ţ
1611	151	LEU	HD2	Η	0.83	0.02	1	1612	151	LEU	C	C	178.83	0.20	1
1613	151	LEU	CA	C	57.36	U.20	1	1614	151 I	LEU	CB	C	41.59	U.20	1

1615	151	LEU	CG	С	26.68	0.20	1	1616	151	LEU	CD1	С	25.62	0.20	2
1617	151	LEU	CD2	С	23.34	0.20	2	1018	151	LEU	Ν	Ν	119.27	0.20	1
1619	152	ALA	Н	Н	7.30	0.02	1	1620	152	ALA	HA	Η	4.22	0.02	1
1621	152	ALA	HB	Η	1.26	0.02	1	1622	152	ALA	C	С	176.21	0.20	1
1623	152	ALA	CA	С	52.12	0.20	1	1624	152	ALA	CB	С	18.95	0.20	1
1625	152	ALA	N	Ν	118.03	0.20	1	1626	153	HIS	Н	Η	7.44	0.02	1
1627	153	HIS	HA	Η	4.85	0.02	1	1628	153	HIS	HB2	Η	3.10	0.02	2
1629	153	HIS	HB3	Η	2.53	0.02	2	1630	153	HIS	HD2	Η	6.86	0.02	1
1631	153	HIS	HE1	Η	8.04	0.02	1	1632	153	HIS	CA	С	54.31	0.20	1
1633	153	HIS	CB	С	27.64	0.20	1	1634	153	HIS	N	Ν	116.48	0.20	1
1635	154	PRO	HA	Η	4.60	0.02	1	1636	154	PRO	HB2	Η	2.35	0.02	2
1637	154	PRO	HB3	Η	2.04	0.02	2	1638	154	PRO	HG2	Η	1.98	0.02	2
1639	154	PRO	HG3	Η	1.90	0.02	2	1640	154	PRO	HD2	Η	3.57	0.02	2
1641	154	PRO	HD3	Η	3.23	0.02	2	1642	154	PRO	C	С	176.39	0.20	1
1643	154	PRO	CA	С	64.53	0.20	1	1644	154	PRO	CB	С	31.77	0.20	1
1645	154	PRO	CG	С	27.17	0.20	1	1646	154	PRO	CD	С	50.54	0.20	1
1647	155	ASP	Н	Η	8.71	0.02	1	1648	155	ASP	HA	Η	4.48	0.02	1
1649	155	ASP	HB2	Η	2.68	0.02	1	1650	155	ASP	HB3	Η	2.68	0.02	1
1651	155	ASP	С	С	176.13	0.20	1	1652	155	ASP	CA	С	53.89	0.20	1
1653	155	ASP	CB	С	39.93	0.20	1	1654	155	ASP	Ν	Ν	116.17	0.20	1
1655	156	TYR	Н	Η	8.07	0.02	1	1656	156	TYR	HA	Η	4.20	0.02	1
1657	156	TYR	HB2	Η	3.13	0.02	2	1658	156	TYR	HB3	Η	3.00	0.02	2
1659	156	TYR	HD1	Η	6.99	0.02	1	1660	156	TYR	HD2	Η	6.99	0.02	1
1661	156	TYR	HE1	Η	6.59	0.02	1	1662	156	TYR	HE2	Η	6.59	0.02	1
1663	156	TYR	С	С	174.24	0.20	1	1664	156	TYR	CA	С	60.08	0.20	1
1665	156	TYR	CB	С	37.81	0.20	1	1666	156	TYR	Ν	Ν	123.83	0.20	1
1667	157	ASN	Н	Η	7.22	0.02	1	1668	157	ASN	HA	Η	4.23	0.02	1
1669	157	ASN	HB2	Η	2.67	0.02	2	1670	157	ASN	HB3	Η	2.55	0.02	2
1671	157	ASN	HD21	Η	7.28	0.02	2	1672	157	ASN	HD22	Η	6.66	0.02	2
1673	157	ASN	CA	С	54.39	0.20	1	1674	157	ASN	CB	С	41.37	0.20	1
1675	157	ASN	CG	С	177.93	0.20	1	1676	157	ASN	N	Ν	130.00	0.20	1
1677	157	ASN	ND2	Ν	112.67	0.20	1								

### 10.1.3 Chemische Verschiebungen von Bet v 4

1	1	ALA at.a	HA	H	4.09	0.02	1		2	1	ALA	HB	H	1.52	0.02	1
5	1		CP	c	10 55	0.20	1		6	2	ADA	U U	ц	8 67	0.20	1
7	2	ADA	НΣ	н	4 65	0.20	1		8	2	AGD	ив2	н	2 71	0.02	2
ģ	2	AGD	<u>нв</u> 3	н	2 58	0.02	2		10	2	AGD	C	Ċ	175 40	0.02	1
11	2	ASP	CA	ĉ	54 14	0.00	1		12	2	ASP	CB	Ĉ	41 08	0.20	1
13	2	ASP	CG	Ĉ	179 92	0.20	1		14	2	ASP	N	N	120 56	0.20	1
15	2	AGD	н	н	8 38	0.20	1		16	2	AGD	ЧΔ	н	4 58	0.02	1
17	3	ASP	HB2	н	2 60	0.02	1		18	ĩ	ASP	HR3	н	2 60	0.02	1
19	3	ASP	C	Ċ	175 68	0.02	1		20	3	ASP	CA	Ċ	54 10	0.02	1
21	ž	ASP	CB	Ĉ	41.21	0.20	1		22	3	ASP	CG	Ĉ	179.71	0.20	1
23	ž	ASP	N	N	120.82	0.20	1		24	4	HIS	н	н	8.62	0.02	1
25	4	HIS	HA	Н	4.98	0.02	1		26	4	HIS	HB2	Н	3.34	0.02	2
27	4	HIS	HB3	н	3.15	0.02	2		2.8	4	HIS	HD2	н	7.19	0.02	1
29	4	HIS	HE1	Н	8.02	0.02	1		30	4	HIS	CA	C	54.01	0.20	1
31	4	HIS	CB	C	28.36	0.20	1		32	4	HIS	N	Ň	119.03	0.20	1
33	5	PRO	HA	Ĥ	4.40	0.02	1		34	5	PRO	HB2	H	2.36	0.02	2
35	5	PRO	HB3	Н	1.99	0.02	2		36	5	PRO	HG2	Н	2.07	0.02	1
37	5	PRO	HG3	Н	2.07	0.02	1		38	5	PRO	HD2	Н	3.75	0.02	2
39	5	PRO	HD3	Н	3.72	0.02	2		40	5	PRO	C	C	178.11	0.20	1
41	5	PRO	CA	С	64.64	0.20	1		42	5	PRO	CB	C	32.20	0.20	1
43	5	PRO	CG	Ĉ	27.61	0.20	1		44	5	PRO	CD	Ĉ	50.78	0.20	1
45	6	GLN	Н	Н	8.93	0.02	1		46	6	GLN	HA	H	4.31	0.02	1
47	6	GLN	HB2	Н	2.13	0.02	2		48	6	GLN	HB3	Н	2.06	0.02	2
49	6	GLN	HG2	Н	2.45	0.02	1		50	6	GLN	HG3	Н	2.45	0.02	1
51	6	GLN	HE21	Η	7.63	0.02	2		52	6	GLN	HE22	Η	6.85	0.02	2
53	6	GLN	С	С	176.89	0.20	1		54	6	GLN	CA	С	57.34	0.20	1
55	6	GLN	CB	С	28.81	0.20	1		56	6	GLN	CG	С	33.92	0.20	1
57	6	GLN	CD	С	180.64	0.20	1		58	6	GLN	Ν	Ν	119.72	0.20	1
59	6	GLN	NE2	Ν	112.33	0.20	1		60	7	ASP	H	Η	8.09	0.02	1
61	7	ASP	HA	Η	4.59	0.02	1		62	7	ASP	HB2	Η	2.90	0.02	2
63	7	ASP	HB3	Η	2.75	0.02	2		64	7	ASP	С	С	177.37	0.20	1
65	7	ASP	CA	С	55.39	0.20	1		66	7	ASP	CB	С	41.07	0.20	1
67	7	ASP	CG	С	179.61	0.20	1		68	7	ASP	N	Ν	121.41	0.20	1
69	8	LYS	Н	Η	8.12	0.02	1		70	8	LYS	HA	Η	4.00	0.02	1
71	8	LYS	HB2	Η	1.93	0.02	1		72	8	LYS	HB3	Η	1.93	0.02	1
73	8	LYS	HG2	Η	1.56	0.02	2		74	8	LYS	HG3	Η	1.47	0.02	2
75	8	LYS	HD2	Η	1.70	0.02	1		76	8	LYS	HD3	Η	1.70	0.02	1
77	8	LYS	HE2	Η	2.99	0.02	1		78	8	LYS	HE 3	Η	2.99	0.02	1
79	8	LYS	C	С	178.02	0.20	1		80	8	LYS	CA	С	60.14	0.20	1
81	8	LYS	CB	С	32.82	0.20	1		82	8	LYS	CG	С	25.17	0.20	1
83	8	LYS	CD	С	29.69	0.20	1		84	8	LYS	CE	С	42.29	0.20	1
85	8	LYS	N	Ν	121.70	0.20	1		86	9	ALA	Н	Η	8.18	0.02	1
87	9	ALA	HA	Η	4.23	0.02	1		88	9	ALA	HB	Η	1.51	0.02	1
89	9	ALA	C	С	180.66	0.20	1		90	9	ALA	CA	С	54.96	0.20	1
91	9	ALA	CB	С	18.10	0.20	1		92	9	ALA	N	Ν	121.13	0.20	1
93	10	GLU	Н	Н	8.08	0.02	1		94	10	GLU	HA	Н	4.22	0.02	1
95	10	GLU	HB2	Η	2.23	0.02	2		96	10	GLU	HB3	Η	2.16	0.02	2
97	10	GLU	HG2	Н	2.41	0.02	1		98	10	GLU	HG3	Н	2.41	0.02	1
99	10	GLU	С	С	178.58	0.20	1	-	100	10	GLU	CA	С	59.10	0.20	1
101	10	GLU	CB	С	29.52	0.20	1	-	L02	10	GLU	CG	С	35.29	0.20	1

1.02       1         .02       2         .02       2         .02       2         .02       1         .20       1
ннннноооиннноонннннноооииннноооинннноооннннноооиннннноооинннноонноонноонноонноонноонноонноонно
H H H H H H C C C C N H H H H H H H H H
ARGG ARGG ARGG ARGG ARGG ARGG ARGG ARGG
11 11 11 11 11 11 12 12 22 21 13 33 33 33 44 44 44 44 45 55 55 66 66 66 66 67 77 77 77 77 78 88 88 89 99 99 99 90 02 21 21 21 22 22 23 33 44 45 55 55 56 66 66 66 66 67 77 77 77 77 77 77 77 77
$\begin{array}{c} 1046\\ 100\\ 112\\ 116\\ 122\\ 124\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 024\\ 68\\ 0224\\ 226\\ 232\\ 234\\ 246\\ 222\\ 224\\ 238\\ 222\\ 234\\ 246\\ 252\\ 256\\ 266\\ 272\\ 276\\ 280\\ 222\\ 224\\ 238\\ 222\\ 234\\ 246\\ 252\\ 256\\ 266\\ 272\\ 276\\ 280\\ 222\\ 224\\ 238\\ 222\\ 234\\ 246\\ 252\\ 256\\ 266\\ 272\\ 276\\ 280\\ 222\\ 224\\ 238\\ 222\\ 234\\ 246\\ 252\\ 255\\ 266\\ 272\\ 276\\ 280\\ 222\\ 224\\ 238\\ 222\\ 224\\ 238\\ 222\\ 224\\ 246\\ 252\\ 255\\ 256\\ 222\\ 226\\ 226\\ 226\\ 22$
112221111122111112211111111111111111111
0.202 0.022 0
$\begin{array}{c} 119.71\\ 1.97\\ 1.64\\ 1.97\\ 1.64\\ 3.05\\ 179.00\\ 30.80\\ 44.03\\ 18.33\\ 2.21\\ 2.39\\ 178.09\\ 29.20\\ 118.45\\ 4.01\\ 51.54\\ 3.22\\ 6.96\\ 179.48\\ 30.60\\ 43.56\\ 179.48\\ 30.60\\ 43.56\\ 119.63\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 0.95\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 0.95\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 0.95\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 0.95\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 0.95\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 0.95\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 0.95\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.15\\ 1.98\\ 65.01\\ 71.62\\ 8.40\\ 3.16\\ 6.63\\ 7.02\\ 6.55\\ 27.06\\ 1.92\\ 52.56\\ 1.92\\ 51.69\\ 12.82\\ 7.45\\ 1.55\\ 27.06\\ 6.55\\ 27.06\\ 1.53\\ 55.27\\ 1.53\\ 55.27\\ 1.53\\ 55.27\\ 1.53\\ 51.69\\ 172.94\\ 1.53\\ 51.69\\ 1.53\\ 1.55\\ 51.69\\ 1.53\\ 1.55\\ 51.69\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55\\ 1.53\\ 1.55$
инннноооинннноолиннннноооиннннноооннннннооонннннноооиннннноооиннннооонннннооонноинноооиноин
NHAB333 CBCDNHBG2CBNABG333111 3 CBCDNHBG11CCCDHBG11CCCDHBG11CCNABG33333 CCDHBG11CCCDHBG11CCCCHBG11CCCCHBG12CCCCHBG12CCCCAGCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
GLGG GLUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU
101 111 111 112 122 123 33 33 13 13 13 13 14 4 4 4 4 4 4 5 5 5 5 5 5 6 6 6 6 6 6 6
$\begin{smallmatrix} 1035\\ 1079\\ 113\\ 1225\\ 1227\\ 1335\\ 13579$ 13579

25		T.VG	دىلا	ч	0 77	0 0 2	2	294	25	LVC	н <b>г</b> 2	ч	2 20	0 00	2
2	5	LYS	HE3	н Н	1.96	0.02	∠ 2	286	25	LYS	C	С	2.29 174.80	0.20	∠ 1
25		LYS	CA	С	54.28	0.20	1	288	25	LYS	CB	Ĉ	36.29	0.20	1
25	5	LYS	CG	C	23.67	0.20	1	290	25	LYS	CD	С	29.23	0.20	1
25		LYS	CE	C	41.85	0.20	1	292	25	LYS	N	N	117.30	0.20	1
2	6 6	ILE	H	H	9.63	0.02	1	294	26	ILE TI D	HA HC12	H	5.03	0.02	1
4	26 26	포 다 또 고 다 다 다	нв нс1 2	н Ч	T.AT	0.02	⊥ 2	296 298	∠6 26	TT.F	HG12 HG2	н Ч	0.9/	U.U∠ N N2	∠ 1
2	6	ILE	HD1	Н	0.23	0.02	1	300	26	ILE	C	С	176.33	0.20	1
2	26	ILE	CA	C	60.04	0.20	1	302	26	ILE	СВ	Ĉ	39.36	0.20	1
	26	ILE	CG1	С	27.03	0.20	1	304	26	ILE	CG2	С	18.11	0.20	1
	26	ILE	CD1	С	14.86	0.20	1	306	26	ILE	N	Ν	125.71	0.20	1
-	27	SER	H	H	9.47	0.02	1	308	27	SER	HA	H	4.79	0.02	1
	∠/ 27	SER	HB2 HC	H U	4.45 5 00	0.02	∠ 1	310 210	∠'/ 27	SER	нв3 С	н С	4.⊥8 174 27	0.02	2
	27	SER	CA	С	56.42	0.02	1	314	27	SER	CB	C	66.38	0.20	1
	27	SER	N	Ň	125.28	0.20	1	316	28	ALA	H	H	8.83	0.02	1
	28	ALA	HA	н	4.21	0.02	1	318	28	ALA	HB	н	1.38	0.02	1
	28	ALA	C	С	180.78	0.20	1	320	28	ALA	CA	С	56.14	0.20	1
	28	ALA	CB	C	17.94	0.20	1	322	28	ALA	N	N	123.49	0.20	1
	29 20	ALA AT A	H HR	н ч	8.35 1 44	0.02	⊥ 1	324	29 20	АЦА ДТ.Л	на С	н С	4.⊥3 181 10	0.02	⊥ 1
	29 29	ALA	CA	С	54.98	0.02	1	328	29 29	ALA	СВ	C	18.26	0.20	1
	29	ALA	N	Ň	120.72	0.20	ī	330	30	GLU	H	H	7.83	0.02	ī
	30	GLU	HA	Н	4.02	0.02	1	332	30	GLU	HB2	Н	2.56	0.02	2
	30	GLU	HB3	H	2.46	0.02	2	334	30	GLU	HG2	H	2.62	0.02	2
	30	GLU	HG3	H	2.41	0.02	2	336	30	GLU	C	C	180.34	0.20	1
	30 30	GLU	CA	C	58.69 37 37	0.20 0.20	⊥ 1	338 740	30 30	GT II GT II	N N	C N	∠9.48 119 २5	0.20 0.20	⊥ 1
	31	LEU	H	Н	8.78	0.02	1	342	31	LEU	HA	Н	3.89	0.02	1
	31	LEU	HB2	H	1.99	0.02	2	344	31	LEU	HB3	H	1.40	0.02	2
	31	LEU	HG	Н	1.54	0.02	1	346	31	LEU	HD1	Н	0.83	0.02	2
	31	LEU	HD2	H	0.77	0.02	2	348	31	LEU	C	C	178.51	0.20	1
	3⊥ 31	LEU	CA	C	58.35 26 55	0.20	⊥ 1	350	3⊥ 21	LEU	CB CD1	C	4⊥.63 26 25	0.20	⊥ 2
	31	LEII	CD2	C	22.79	0.20	2	354	31	LEII	N	N	122.39	0.20	⊿ 1
	32	GLY	H	H	8.34	0.02	1	356	32	GLY	HA2	Ĥ	4.00	0.02	2
	32	GLY	HA3	Н	3.61	0.02	2	358	32	GLY	С	С	176.01	0.20	1
	32	GLY	CA	С	48.05	0.20	1	360	32	GLY	N	Ν	103.73	0.20	1
	33	GLU	H	H	7.90	0.02	1	362	33	GLU	HA	H	4.04	0.02	1
	33 22	GLU	HG5 HG5	н ч	2.12	0.02	∠ 2	364 266	33 22	GLU	HG3 HB3	H U	∠.07 2.41	0.02	2
	33	GLU	C	C.	178.86	0.20	1	368	3.3	GLU	CA	С	58.81	0.20	1
	33	GLU	Св	č	29.10	0.20	ī	370	33	GLU	CG	č	34.97	0.20	ī
	33	GLU	Ν	Ν	119.99	0.20	1	372	34	ALA	Н	Н	7.72	0.02	1
	34	ALA	HA	Н	4.01	0.02	1	374	34	ALA	HB	Н	0.85	0.02	1
	34	ALA	C	C	180.46	0.20	1	376	34	ALA	CA	C	54.68	0.20	1
	১4 २८	ALA LEU	св Н	С Н	1/.98 R 1R	0.∠0 0 ∩?	⊥ 1	3/8 280	34 25	АЦА Т.ЕП	ЧД	N H	⊥∠⊥.⊥U 4 ∩9	0.∠0 0 ∩?	⊥ 1
	35	LEU	HB2	Н	1.82	0.02	2	382	35	LEU	HB3	Н	1.52	0.02	2
	35	LEU	HG	H	1.98	0.02	1	384	35	LEU	HD1	H	0.88	0.02	1
	35	LEU	HD2	Н	0.88	0.02	1	386	35	LEU	С	С	179.38	0.20	1
	35	LEU	CA	C	57.03	0.20	1	388	35	LEU	CB	C	41.36	0.20	1
	35	LEU	CG	C	26.82	0.20	1	390	35	LEU	CD1 N	C	26.65	0.20	2
	35	LYS	H CDZ	Н	22.47	0.20	2	394	35	LYS	HA	H	4.32	0.20	1
	36	LYS	HB2	H	1.97	0.02	2	396	36	LYS	HB3	H	1.92	0.02	2
	36	LYS	HG2	Н	1.55	0.02	1	398	36	LYS	HG3	Н	1.55	0.02	1
	36	LYS	HD2	Η	1.69	0.02	1	400	36	LYS	HD3	H	1.69	0.02	1
	36	LYS	HE2	H	2.97	0.02	1	402	36	LYS	HE3	H	2.97	0.02	1
	36 36	LYS	CP	C	⊥/8.4⊥ 32 41	0.20	⊥ 1	404 406	36	LYS	CA	C	59.08 25 25	0.20	⊥ 1
	36	LYS	CD	C	29.61	0.20	1	408	36	LAZ	CE	C	42.26	0.20	1
	36	LYS	N	Ň	119.58	0.20	ĩ	410	37	THR	H	Ĥ	7.51	0.02	1
	37	THR	HA	Н	4.14	0.02	1	412	37	THR	HB	Η	4.33	0.02	1
	37	THR	HG2	H	1.32	0.02	1	414	37	THR	C	C	175.61	0.20	1
	37	THR	CA	C	64.30 21 00	0.20	1	416	37	THR	CB	C	69.28	0.20	1
	3/ 38	THK	CGZ H	С Н	⊿⊥.98 7 60	0.∠0 0 ∩?	⊥ 1	418 420	3 / 3 R	THK L'EII	ЧД	N H	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	0.∠0 0 ∩?	⊥ 1
	38	LEU	HB2	H	1.88	0.02	2	422	38	LEU	HB3	H	1.74	0.02	2
	38	LEU	HG	Н	1.76	0.02	1	424	38	LEU	HD1	Н	0.96	0.02	2
	38	LEU	HD2	Н	0.87	0.02	2	426	38	LEU	С	С	177.57	0.20	1
	38	LEU	CA	C	55.83	0.20	1	428	38	LEU	CB	C	42.47	0.20	1
	38	LEU	CG	C	27.17	0.20	1 2	430	38	LEU	CDI	C.	25.79	0.20	2
	30 20	LEU GI.V	CDZ H	С Н	43.59 7.67	0.20 0 02	∠ 1	432 434	20 20	CI.V CI.V	и НД Э	N	⊥∠∪.8∠ 4 10	0.∠0 0 02	⊥ 2
	39	GLY	HA3	Н	3.89	0.02	2	436	39	GLY	C	С	172.79	0.20	∠ 1
	39	GLY	CA	C	45.58	0.20	1	438	39	GLY	N	Ň	107.24	0.20	1
	40	SER	Н	Η	8.05	0.02	1	440	40	SER	HA	Н	4.45	0.02	1
	40	SER	HB2	H	3.90	0.02	2	442	40	SER	HB3	Н	3.85	0.02	2
	40	SER	C	C	174.34	0.20	1	444	40	SER	CA	C	58.46	0.20	1
	40 41	SER	CB u	С ч	63.44 g 12	0.20	1	446	40 41	SER	N UN	N IJ	114.02	0.20	1
	±⊥ 41	TTE	п HB	н Н	0.13 1.81	0.02	⊥ 1	448 450	41 41	TI'E TI'E	HG12	н Н	4.02 1.51	0.02	⊥ 2
	41	ILE	HG13	H	1.26	0.02	2	452	41	ILE	HG2	H	0.84	0.02	1
	41	ILE	HD1	н	0.84	0.02	1	454	41	ILE	C	С	175.13	0.20	1
	41	ILE	CA	C	59.72	0.20	1	456	41	ILE	CB	C	40.00	0.20	1
	41	ILE	CG1	C	27.94	0.20	1	458	41	ILE	CG2	C	17.58	0.20	1
	4⊥ 4.2	LLE TUP	CDT CDT	C u	13.92 g 11	0.20	⊥ 1	460	4⊥ 4 2	LLE TUD	N HA	N U	123.18 1 00	0.20	1
	ᅻ᠘	TUK	п	п	0.11	0.04	1	402	72	T LIK	пA	п	4.04	0.04	1

463	42	THR	HB	Η	4.65	0.02	1	464	42	THR	HG2	Η	1.30	0.02	1
465	42	THR	CA	С	59.77	0.20	1	466	42	THR	CB	С	69.07	0.20	1
467	42	THR	CG2	С	21.99	0.20	1	468	42	THR	N	Ν	117.91	0.20	1
469	43	PRO	HA	Н	4.26	0.02	1	470	43	PRO	HB2	Н	2.41	0.02	2
471	43	DRO	HB3	н	1 98	0 02	2	472	43	DRO	HC2	н	2 21	0 02	2
172	12		uC2	и 11	2 04	0.02	2	171	12		uр2	и 11	2.21	0.02	2
475	43	PRO		п	2.04	0.02	2	474	40	DDO	пD2 d	п	170 50	0.02	1
4/5	43	PRO	HD3	н	3.91	0.02	2	4/6	43	PRO	C	Č	1/9.59	0.20	1
4.7.7	43	PRO	CA	C	65.81	0.20	T	478	43	PRO	CB	C	31.91	0.20	T
479	43	PRO	CG	С	28.10	0.20	1	480	43	PRO	CD	С	50.62	0.20	1
481	44	ASP	Η	Η	8.36	0.02	1	482	44	ASP	HA	Η	4.40	0.02	1
483	44	ASP	HB2	Η	2.57	0.02	1	484	44	ASP	HB3	Η	2.57	0.02	1
485	44	ASP	С	С	178.59	0.20	1	486	44	ASP	CA	С	57.10	0.20	1
487	44	ASP	CB	č	40 53	0 20	1	488	44	ASP	N	N	116 46	0 20	1
489	45	CLU	ц	ц	7 83	0.20	1	490	45	CLU	цл	U U	4 14	0.20	1
401	15	CLU	11	11 TT	2 41	0.02	2	400	15	CLU		11	7.17	0.02	2
491	45	GLU	HBZ	H	2.41	0.02	2	492	45	GLU	HB3	н	2.05	0.02	2
493	45	GLU	HG2	Н	2.41	0.02	T	494	45	GLU	HG3	н	2.41	0.02	T
495	45	GLU	С	С	179.47	0.20	1	496	45	GLU	CA	С	59.09	0.20	1
497	45	GLU	CB	С	29.28	0.20	1	498	45	GLU	CG	С	35.20	0.20	1
499	45	GLU	Ν	Ν	121.63	0.20	1	500	46	VAL	Η	Η	8.03	0.02	1
501	46	VAL	HA	Η	3.39	0.02	1	502	46	VAL	HB	Η	2.22	0.02	1
503	46	VAL	HG1	Н	1.02	0.02	2	504	46	VAL	HG2	Н	0.88	0.02	2
505	46	VAT.	C	C	177.57	0.20	1	506	46	VAL	CA	C	67.42	0.20	1
507	46	VIII.	CP	Ĉ	21 51	0 20	1	508	46	VIII.	CC1	Ĉ	23 61	0.20	2
500	16		CD	č	21 62	0.20	2	510	16	VAL VAT	M	N	120 04	0.20	1
509	40	VAL T VO	CGZ	C II	21.03	0.20	1	510	40	VAL T VO	IN	IN	120.94	0.20	1
511	47	LIS	H	H	1.82	0.02	1	512	47	LIS	HA	н	3.90	0.02	1
513	4 /	LYS	HBZ	H	1.89	0.02	T	514	4 /	LYS	HB3	н	1.89	0.02	T
515	47	LYS	HG2	н	1.57	0.02	2	516	47	LYS	HG3	Н	1.39	0.02	2
517	47	LYS	HD2	Η	1.68	0.02	1	518	47	LYS	HD3	Η	1.68	0.02	1
519	47	LYS	HE2	Η	2.95	0.02	1	520	47	LYS	HE3	Н	2.95	0.02	1
521	47	LYS	С	С	179.62	0.20	1	522	47	LYS	CA	С	59.90	0.20	1
523	47	LYS	CB	C	32.40	0.20	1	524	47	LYS	CG	Ċ	25.28	0.20	1
525	47	LVG	CD	ĉ	29 55	0 20	1	526	47	LVG	CE	ĉ	42 24	0 20	1
527	47	LVC	N	N	118 57	0.20	1	528	4.9	UTC	U U	u U	8 00	0.20	1
527	10	UTC	117	TT	1 4 2	0.20	1	520	10	IIIO	11 0	11	2 24	0.02	1
529	40	HIS HIS		п	4.42	0.02	1	530	40	HIS HIS	пв2 up2	п	3.34	0.02	1
531	48	HIS	HB3	H	3.34	0.02	Ţ	532	48	HIS	HDZ	н	/.25	0.02	T
533	48	HIS	HEL	Н	8.37	0.02	T	534	48	HIS	C	C	176.75	0.20	T
535	48	HIS	CA	С	58.61	0.20	1	536	48	HIS	СВ	С	28.24	0.20	1
537	48	HIS	Ν	Ν	117.90	0.20	1	538	49	MET	Н	Н	8.29	0.02	1
539	49	MET	HA	Η	4.03	0.02	1	540	49	MET	HB2	Η	2.18	0.02	2
541	49	MET	HB3	Η	1.87	0.02	2	542	49	MET	HG2	Н	2.63	0.02	2
543	49	MET	HG3	н	2.40	0.02	2	544	49	MET	HE	н	2.01	0.02	1
545	49	MET	C	C	178 31	0 20	1	546	49	MET	CA	C	59 00	0 20	1
547	10	MET	CP	ĉ	32 68	0.20	1	548	10	MET	CC	Ċ	32 64	0.20	1
510	10	MET	CB	č	17 15	0.20	1	550	10	MET	N	N	110 16	0.20	1
549	49	MED		C II	17.13	0.20	1	550	49	MED	IN	IN	119.40	0.20	1
551	50	MEI	H	H	8.44	0.02	Ţ	554	50	MET	HA	н	4.02	0.02	Ť
553	50	MET	HBZ	н	2.18	0.02	2	554	50	MET	HB3	н	1.97	0.02	2
555	50	MET	HG2	н	2.63	0.02	2	556	50	MET	HG3	Н	2.52	0.02	2
557	50	MET	HE	Η	1.83	0.02	1	558	50	MET	С	С	177.51	0.20	1
559	50	MET	CA	С	57.76	0.20	1	560	50	MET	CB	С	30.78	0.20	1
561	50	MET	CG	С	32.21	0.20	1	562	50	MET	CE	C	17.15	0.20	1
563	50	MET	Ν	Ν	117.80	0.20	1	564	51	ALA	Η	Η	7.49	0.02	1
565	51	ALA	HA	Н	4.13	0.02	1	566	51	ALA	HB	Н	1.45	0.02	1
567	51	ALA	С	С	179.60	0.20	1	568	51	ALA	CA	С	54.44	0.20	1
569	51	AT.A	CB	Ĉ	18 12	0 20	1	570	51	AT.A	N	N	118 10	0 20	1
571	52	GLII	н	ਸ	7 47	0.00	1	572	52	GLII	нъ	ч	4 10	0.02	1
573	52	CLU	11 11 11 20	u u	2 1 2	0.02	2	574	52	CLU	102	ŭ	2 10	0.02	2
575	52	CTI		и П	2.13	0.02	2	576	52	CLU		и П	2.10	0.02	2
575	52	GLU	ngz a	п	177 14	0.02	1	570	52	GLU	DG2	п	2.34	0.02	1
5//	52	GLU	C	C	1//.14	0.20	1	5/8	52	GLU	CA	Č	5/./1	0.20	1
5/9	52	GLU	CB	C	29.65	0.20	Ţ	580	52	GLU	ĊĠ	C	34.08	0.20	T
581	52	GLU	N	N	114.74	0.20	T	582	53	TTR	H	Н	7.65	0.02	T
583	53	ILE	HA	н	3.81	0.02	T	584	53	ILE	HB	Н	1.32	0.02	T
585	53	ILE	HG12	Η	1.37	0.02	2	586	53	ILE	HG13	Н	-0.41	0.02	2
587	53	ILE	HG2	Η	0.85	0.02	1	588	53	ILE	HD1	Η	0.20	0.02	1
589	53	ILE	С	С	177.27	0.20	1	590	53	ILE	CA	С	63.36	0.20	1
591	53	ILE	CB	С	39.33	0.20	1	592	53	ILE	CG1	С	27.24	0.20	1
593	53	ILE	CG2	С	19.65	0.20	1	594	53	ILE	CD1	С	13.82	0.20	1
595	53	ILE	Ν	Ν	116.86	0.20	1	596	54	ASP	Н	Н	8.31	0.02	1
597	54	ASP	HA	Н	4.72	0.02	1	598	54	ASP	HB2	Н	2.98	0.02	2
599	54	ASP	HR3	н	2 26	0 02	2	600	54	ASP	C	C	177 05	0 20	1
601	54	AGD	CA	Ĉ	53 15	0.02	1	602	54	AGD	CB	č	39 58	0.20	1
603	51	VGD	CC	c	170 70	0.20	1	604	54	7 GD	N	NT	110 57	0.20	1
605	54	ADP	UG U	U 17	1 1 2 . 1 2	0.20	⊥ 1	604	54	ADP	T1 20 TN	1N 77	1 0.5/	0.20	1
005	22	THR	п	H	0.29	0.02	1	000	35	THK	пА	H	4.UL	0.02	1
607	55	THR	нв	H	4.31	0.02	1	008	55	THR	HG2	H	1.32	0.02	1
609	55	THR	C	C	176.85	0.20	1	610	55	THR	CA	C	64.91	0.20	1
611	55	THR	CB	С	69.22	0.20	1	612	55	THR	CG2	С	22.68	0.20	1
613	55	THR	N	Ν	119.86	0.20	1	614	56	ASP	Н	Н	8.31	0.02	1
615	56	ASP	HA	Η	4.72	0.02	1	616	56	ASP	HB2	Н	3.11	0.02	2
617	56	ASP	HB3	Η	2.73	0.02	2	618	56	ASP	С	С	178.25	0.20	1
619	56	ASP	CA	C	53.53	0.20	1	620	56	ASP	CB	Ċ	39.76	0.20	1
621	56	ASP	N	N	117 86	0.20	1	622	57	GLY	H	н	7 71	0.02	1
623	57	GT.V	нд 2	ц	3 91	0 020	2	624	57	GL.V	нд २	ч	3 80	0 02	2
625	57	CT V	C	C L	175 20	0.02	1	626	57	CIV	CV	с С	47 27	0.02	1
627	57	CTV	N	L NT	100 16	0.20	1 1	620	57	JGDI	U U	U U	1/.3/ 0 E1	0.20	1
620	5/	J CD I	T1 20	11	109.40	0.20	1	040 620	50	ADP		п ,,	0.51	0.02	Ţ
029 C21	58	ASP	HA	H	4.50	0.02	Ţ	030	20	ASP	нв2	н	3.10	0.02	2
631 622	58	ASP	нвз	H	2.64	0.02	2	632	58	ASP	C ar	C	111.03	0.20	Ţ
633	58	ASP	CA	С	54.06	0.20	1	634	58	ASP	CB	С	40.51	0.20	1
635	58	ASP	Ν	Ν	120.79	0.20	1	636	59	GLY	Н	Н	10.13	0.02	1
637	59	GLY	HA2	Η	3.91	0.02	2	638	59	GLY	HA3	Н	3.28	0.02	2
639	59	GLY	С	С	172.53	0.20	1	640	59	GLY	CA	С	45.06	0.20	1
641	59	GLY	Ν	Ν	112.24	0.20	1	642	60	PHE	H	Η	8.14	0.02	1

60		PHE	HA	Н	5.00	0.02	1	644	60	PHE	HB2	Н	2.83	0.02	2
60		PHE	HB3	H	2.63	0.02	2	646	60 60	PHE	HD1	H	6.85	0.02	1
60 60		PHE	HDZ HE2	н н	6.85 7 34	0.02	⊥ 1	648 650	60 60	PHE	C HEI	Р	/.34 174 83	0.02	1
60		PHE	CA	C	55.80	0.20	1	652	60	PHE	CB	C	44.30	0.20	1
60		PHE	Ν	Ν	116.54	0.20	1	654	61	ILE	H	Η	9.78	0.02	1
6.	L	ILE	HA	H	5.00	0.02	1	656	61	ILE	HB	H	2.11	0.02	1
6	1	ILE	HG12 HG2	Н	$1.00 \\ 1.27$	0.02	1	660	61	ILE	HD1	Н	0.84	0.02	1
6	1	ILE	C	C	176.23	0.20	1	662	61	ILE	CA	C	60.34	0.20	1
6	1	ILE	СВ	С	39.71	0.20	1	664	61	ILE	CG1	С	27.22	0.20	1
6	1	ILE	CG2	C	19.01	0.20	1	666	61	ILE	CD1	C	15.42	0.20	1
e	52	SER	HA	H	4.99	0.20	1	670	62	SER	н HB2	н	4.55	0.02	2
	62	SER	HB3	Н	4.18	0.02	2	672	62	SER	HG	Н	6.03	0.02	1
6	2	SER	C	С	175.26	0.20	1	674	62	SER	CA	С	56.67	0.20	1
	62 63	SER	св н	С Н	66.04 9.45	0.20	1	676	62 63	DHE	N HA	N H	125.44	0.20	⊥ 1
	63	PHE	 HB2	Н	2.70	0.02	2	680	63	PHE	HB3	Н	2.42	0.02	2
e	53	PHE	HD1	Н	6.45	0.02	1	682	63	PHE	HD2	Η	6.45	0.02	1
	63 63	PHE	HEL HZ	H H	7.11	0.02	1 1	684 686	63 63	PHE	HE2 C	НС	7.11 178 72	0.02	1
	63	PHE	CA	C	62.24	0.20	1	688	63	PHE	СВ	C	38.33	0.20	1
	63	PHE	Ν	Ν	122.84	0.20	1	690	64	GLN	Н	Η	8.79	0.02	1
	64 64	GLN	HA up2	H	3.82	0.02	1	692	64	GLN	HB2	H	2.23	0.02	2
	64 64	GLN	HG3	Н	2.39	0.02	2	696	64 64	GLN	HG2 HE21	н Н	2.45	0.02	2
	64	GLN	HE22	Н	6.88	0.02	2	698	64	GLN	C	C	178.09	0.20	1
	64	GLN	CA	C	59.29	0.20	1	700	64	GLN	CB	C	28.49	0.20	1
	64 64	GLN	CG N	C N	33./8	0.20	⊥ 1	702	64 64	GLN	CD NE2	C N	180.63 114 92	0.20	1
	65	GLU	Н	Н	7.96	0.02	1	706	65	GLU	HA	Н	4.21	0.02	1
	65	GLU	HB2	Н	2.59	0.02	2	708	65	GLU	HB3	Н	2.40	0.02	2
	65 65	GLU	HG2 C	н С	2.75 180.70	0.02 0.20	∠ 1	710	65 65	GLU GLU	HG3 CA	Р	2.52	0.02 0.20	2 1
	65	GLU	СВ	C	29.27	0.20	1	714	65	GLU	CG	Ĉ	36.78	0.20	1
	65	GLU	N	Ν	120.00	0.20	1	716	66	PHE	H	Н	8.90	0.02	1
	66 66	PHE	HA HB3	н ч	4.04	0.02	⊥ 2	718	66 66	PHE	HB2 HD1	H H	3.3⊥ 7.03	0.02	2
	66	PHE	HD2	H	7.03	0.02	1	722	66	PHE	HE1	H	7.17	0.02	1
	66	PHE	HE2	Н	7.17	0.02	1	724	66	PHE	C	С	177.15	0.20	1
	66 66	PHE	CA N	CN	61.88 121.86	0.20	1 1	726	66 67	PHE	СВ н	С н	40.33	0.20	1
	67	THR	HA	H	3.53	0.02	1	720	67	THR	HB	H	4.12	0.02	1
	67	THR	HG2	Н	0.98	0.02	1	732	67	THR	С	С	176.16	0.20	1
	67 67	THR	CA	C	66.65 20 05	0.20	1	734	67 67	THR	CB	C	68.82	0.20	1
	68	ASP	H	Н	8.39	0.20	1	738	68	ASP	HA	H	4.37	0.20	1
	68	ASP	HB2	Н	2.73	0.02	1	740	68	ASP	HB3	Η	2.73	0.02	1
	68	ASP	C	C	178.49	0.20	1	742	68	ASP	CA	C	57.19	0.20	1
	69	PHE	Н	н	7.84	0.20	1	744	69	PHE	HA	H	4.35	0.20	1
	69	PHE	HB2	Н	3.36	0.02	2	748	69	PHE	HB3	Н	2.87	0.02	2
	69	PHE	HD1	H	7.01	0.02	1	750	69	PHE	HD2	H	7.01	0.02	1
	69	PHE	С	С	177.76	0.02 0.20	1	754	69	PHE	CA	С	60.82	0.02	1
	69	PHE	Св	Ĉ	39.54	0.20	1	756	69	PHE	N	N	120.78	0.20	1
	70	GLY	H	H	8.26	0.02	1	758	70	GLY	HA2	H	3.45	0.02	2
	70	GLY	са Са	С	46.51	0.02 0.20	2	760	70	GLY	N	N	107.74	0.20	1
	71	ARG	Н	H	7.72	0.02	1	764	71	ARG	HA	Н	4.00	0.02	1
	71	ARG	HB2	H	1.80	0.02	1	766	71	ARG	HB3	H	1.80	0.02	1
	71	ARG	HG2 HD2	н Н	3.15	0.02	1	700	71	ARG	HD3	н Н	3.15	0.02	1
	71	ARG	HE	Н	7.26	0.02	1	772	71	ARG	C	C	177.15	0.20	1
	71	ARG	CA	C	58.26	0.20	1	774	71	ARG	CB	C	30.31	0.20	1
	71	ARG	CZ	C	27.76	0.20 0.20	1	778	71 71	ARG	N	N	43.53	0.20	1
	71	ARG	NE	N	84.47	0.20	1	780	72	ALA	Н	Н	7.33	0.02	1
	72	ALA	HA	Н	4.29	0.02	1	782	72	ALA	HB	Н	1.33	0.02	1
	72	ALA AT.A	CB	C	19 59	0.20	1	784	72	ALA AT.A	CA N	C N	52.66	0.20	1 1
	73	ASN	H	H	7.58	0.02	1	788	73	ASN	HA	H	4.69	0.02	1
	73	ASN	HB2	Н	2.41	0.02	2	790	73	ASN	HB3	Η	2.05	0.02	2
	73 72	ASN	HD21	H	7.00	0.02	2	792	73	ASN	HD22	H	6.87	0.02	2
	73	ASN	СВ	C	39.00	0.20	1 1	794 796	73	ASN	CG	C	52.50 177.47	0.20	1 1
	73	ASN	N	N	117.66	0.20	1	798	73	ASN	ND2	Ň	116.04	0.20	1
	74	ARG	H	H	8.10	0.02	1	800	74	ARG	HA	H	4.05	0.02	1
	74	ARG ARG	HB2 HG2	н Н	1.80 1.62	0.02 0.02	2	802 804	74 74	ARG ARG	HB3 HG3	н Н	1.75 1.59	0.02	2
	74	ARG	HD2	H	3.15	0.02	1	806	74	ARG	HD3	H	3.15	0.02	1
	74	ARG	HE	Н	7.31	0.02	1	808	74	ARG	C	C	178.00	0.20	1
	74 74	ARG	CA	C	58.14 27 27	0.20	⊥ 1	810 812	74 74	ARG	CB	C	30.32 43 46	0.20	1
	74	ARG	CZ	C	159.64	0.20	1	814	74	ARG	N	N	120.41	0.20	1
	74	ARG	NE	N	84.91	0.20	1	816	75	GLY	H	Η	8.56	0.02	1
	75	GLY	HA2 C	H	3.91 175 27	0.02	2 1	818	75	GLY	HA3	H	3.82	0.02	2
	75	GLY	Ň	N	108.42	0.20	1	822	76	LEU	H	H	7.80	0.02	1

823	76	LEU	НА	н	4.30	0.02	1	824	76	LEU	HB2	н	1.69	0.02	2
825	76	LEU	HB3	H	1.64	0.02	2	826	76	LEU	HG	Н	1.64	0.02	1
827	76	LEU	HD1	Н	0.95	0.02	2	828	76	LEU	HD2	Н	0.92	0.02	2
829	76	LEU	С	С	178.24	0.20	1	830	76	LEU	CA	С	56.81	0.20	1
831	76	LEU	CB	C	42.39	0.20	1	832	76	LEU	CG	C	27.32	0.20	1
833	76	LEU	CD1	С	24.72	0.20	2	834	76	LEU	CD2	С	24.52	0.20	2
835	76	LEU	Ν	Ν	122.00	0.20	1	836	77	LEU	H	Η	7.83	0.02	1
837	77	LEU	HA	Η	4.19	0.02	1	838	77	LEU	HB2	Η	1.70	0.02	2
839	77	LEU	HB3	Η	1.65	0.02	2	840	77	LEU	HG	Η	1.68	0.02	1
841	77	LEU	HD1	Η	0.82	0.02	2	842	77	LEU	HD2	Η	0.80	0.02	2
843	77	LEU	С	С	178.11	0.20	1	844	77	LEU	CA	С	56.22	0.20	1
845	77	LEU	CB	С	41.32	0.20	1	846	77	LEU	CG	С	27.51	0.20	1
847	77	LEU	CD1	С	25.17	0.20	2	848	77	LEU	CD2	С	23.58	0.20	2
849	77	LEU	N	Ν	118.24	0.20	1	850	78	LYS	H	Η	7.91	0.02	1
851	78	LYS	HA	Η	4.09	0.02	1	852	78	LYS	HB2	Η	1.88	0.02	1
853	78	LYS	HB3	Η	1.88	0.02	1	854	78	LYS	HG2	Η	1.50	0.02	2
855	78	LYS	HG3	Η	1.44	0.02	2	856	78	LYS	HD2	Η	1.68	0.02	1
857	78	LYS	HD3	Η	1.68	0.02	1	858	78	LYS	HE2	Η	2.97	0.02	1
859	78	LYS	HE 3	Η	2.97	0.02	1	860	78	LYS	С	С	177.97	0.20	1
861	78	LYS	CA	С	58.61	0.20	1	862	78	LYS	CB	С	32.34	0.20	1
863	78	LYS	CG	С	24.98	0.20	1	864	78	LYS	CD	С	29.48	0.20	1
865	78	LYS	CE	С	42.27	0.20	1	866	78	LYS	N	Ν	119.46	0.20	1
867	.79	ASP	H	H	8.07	0.02	Ţ	868	.79	ASP	HA	Н	4.58	0.02	Ţ
869	79	ASP	HB2	Н	2.87	0.02	2	870	79	ASP	HB3	Н	2.78	0.02	2
871	79	ASP	C	C	177.97	0.20	1	872	79	ASP	CA	C	56.00	0.20	1
8/3	/9	ASP	CB	C	40.19	0.20	1	8/4	/9	ASP	IN II D	IN TT	119.13	0.20	1
8/5	80	VAL	H	H	8.03	0.02	1	8/6	80	VAL	HA	H	3.9/	0.02	Ţ
8//	80	VAL	HB	H	2.31	0.02	1	8/8	80	VAL	HGI	н	176 55	0.02	2
0/9	00	VAL	HGZ CD	п	±.07	0.02	1	000	00	VAL	C CD	d	1/0.55	0.20	1
001	00	VAL	CA CC1	č	22 15	0.20	2	002	00	VAL	CB	Ĉ	22.24	0.20	2
885	80	VAL VAL	N	N	118 20	0.20	1	886	80 81	VAL AT.A	UGZ U	ц	8 05	0.20	1
887	81	AT.A	ЦД	IN H	4 29	0.20	1	888	81	ALA AT.A	л ИВ	п	1 48	0.02	1
889	81	ALA AT.A	C	Ċ	177 94	0.02	1	890	81	ALA AT.A	CA	C	53 55	0.02	1
891	81	ALA	CB	C	19.05	0.20	1	892	81	ALA	N	N	121.87	0.20	1
893	82	LYS	Н	н	7.61	0.02	1	894	82	LYS	HA	н	4.27	0.02	1
895	82	LYS	HB2	H	1.91	0.02	ī	896	82	LYS	HB3	Н	1.91	0.02	1
897	82	LYS	HG2	Н	1.59	0.02	2	898	82	LYS	HG3	Н	1.48	0.02	2
899	82	LYS	HD2	Н	1.72	0.02	1	900	82	LYS	HD3	Н	1.72	0.02	1
901	82	LYS	HE2	Η	2.99	0.02	1	902	82	LYS	HE3	Η	2.99	0.02	1
903	82	LYS	С	С	176.99	0.20	1	904	82	LYS	CA	С	57.49	0.20	1
905	82	LYS	CB	С	32.73	0.20	1	906	82	LYS	CG	С	25.17	0.20	1
907	82	LYS	CD	С	29.54	0.20	1	908	82	LYS	CE	С	42.26	0.20	1
909	82	LYS	N	Ν	116.13	0.20	1	910	83	ILE	Н	Η	7.64	0.02	1
911	83	ILE	HA	Η	4.19	0.02	1	912	83	ILE	HB	Η	1.79	0.02	1
913	83	ILE	HG12	Η	1.27	0.02	2	914	83	ILE	HG13	Η	1.11	0.02	2
915	83	ILE	HG2	Η	0.66	0.02	1	916	83	ILE	HD1	Η	0.72	0.02	1
917	83	ILE	С	С	174.92	0.20	1	918	83	ILE	CA	С	61.95	0.20	1
919	83	ILE	CB	С	39.31	0.20	1	920	83	ILE	CG1	С	27.12	0.20	1
921	83	ILE	CG2	C	17.66	0.20	1	922	83	ILE	CD1	C	13.68	0.20	1
923	83	ILE	N	N	116.93	0.20	1	924	84	PHE	H	Ĥ	7.67	0.02	1
925	84	PHE	HA	H	4.55	0.02	Ţ	926	84	PHE	HB2	H	3.20	0.02	2
927	84	PHE	HB3	Н	2.91	0.02	2	928	84	PHE	HD1	H	1.27	0.02	1
929 021	84	PHE	HDZ	H	1.27	0.02	1	930	84	PHE	HEI	Н	/.15	0.02	1
73⊥ 222	84	PHE	HEZ OD	Н	/.15	0.02	1	932	84 04	PHE	CA	C.	20.50 125 45	0.20	1
7.7.7	04	PDL	CB	L	40./4	0.40	1	934	04	PDL	TN	IN	143.45	0.40	L 1

### 10.2 J-Kopplungskonstanten

Die gemessenen J-Kopplungskonstanten sind im Format der BioMagResBank angegeben.

### 10.2.1 J-Kopplungskonstanten von Pru av 1 E45W

1	3JHNHA	2	VAL	Н	2	VAL	HA	9.6	1.0
2	3JHNHA	5	TYR	Η	5	TYR	HA	9.5	1.0
3	3JHNHA	6	GLU	Η	6	GLU	HA	9.1	1.0
4	3JHNHA	7	SER	Η	7	SER	HA	8.6	1.0
5	3jhnha	8	GLU	Η	8	GLU	HA	8.1	1.0
6	3jhnha	9	PHE	Η	9	PHE	HA	9.0	1.0
7	3jhnha	10	THR	Η	10	THR	HA	8.9	1.0
8	3jhnha	11	SER	Η	11	SER	HA	9.4	1.0
9	3JHNHA	12	GLU	Η	12	GLU	HA	6.8	1.0
10	3jhnha	13	ILE	Η	13	ILE	HA	6.6	1.0
11	3JHNHA	17	ARG	Η	17	ARG	HA	6.3	1.0
12	3jhnha	18	LEU	Η	18	LEU	HA	4.4	1.0
13	3JHNHA	19	PHE	Η	19	PHE	HA	4.0	1.0
14	3jhnha	20	LYS	Η	20	LYS	HA	4.2	1.0
15	3JHNHA	21	ALA	Η	21	ALA	HA	5.9	1.0
16	3jhnha	22	PHE	Η	22	PHE	HA	6.2	1.0
17	3jhnha	23	VAL	Η	23	VAL	HA	10.2	1.0
18	3JHNHA	24	LEU	Η	24	LEU	HA	4.8	1.0

324

19	3JHNHA	27	ASP	Н	27	ASP	HA	4.2	1.0
20	3.THNHA	28	ASN	н	28	ASN	ЧΔ	6 7	1 0
21		20	TTE	11	20	TIDI	1111	5.7	1 0
21	3J HNHA	33	ТГЕ	н	33	ТТЕ	HA	5./	1.0
22	3JHNHA	36	GLN	н	36	GLN	HA	6.1	1.0
23	3JHNHA	37	ALA	Н	37	ALA	HA	9.1	1.0
24	3.TUNUA	4.0	ите	ц	4.0	UTC	uλ	7 0	1 0
24	2 TIDUIA	40	птр	п	40	AT2	IIA	7.0	1.0
25	3J HNHA	41	SER	Н	4⊥	SER	HA	9.1	1.0
26	3JHNHA	42	GLU	Η	42	GLU	HA	9.5	1.0
27	3 THNHA	43	TLE	Н	43	TLE	HА	7.3	1.0
20		10	1 1010	11	10	1 1010	1111	,	1 0
28	30 HNHA	44	LEO	н	44	上生し	HA	9.2	1.0
29	3JHNHA	47	ASP	н	47	ASP	HA	9.7	1.0
30	3JHNHA	52	THR	Н	52	THR	HA	3.7	1.0
21	3.ΤΠΝΠΥ	53	TTE	u	53	TLE	UΛ	9 7	1 0
20	2 TIMIA	55	1116	11	55	1116	1177	9.7	1.0
32	3J HNHA	54	LYS	н	54	LYS	HA	9.2	1.0
33	3JHNHA	55	LYS	н	55	LYS	HA	8.4	1.0
34	3.THNHA	56	TLE	н	56	TLE	НΔ	96	1 0
25		EO		TT	EO		117	7 6	1 0
35	SUHNHA	50	PHE	п	50	PHE	пА	7.0	1.0
36	JJHNHA	60	GLU	н	60	GLU	HA	6.8	1.0
37	3JHNHA	64	TYR	Η	64	TYR	HA	7.3	1.0
3.8	3.THNHA	66	TVP	н	66	TVP	ЧΔ	74	1 0
20		00	1110	11	00	1110	1177	,.1	1.0
39	30 HNHA	67	VAL	н	67	VAL	HA	8.3	1.0
40	3JHNHA	68	LYS	н	68	LYS	HA	9.4	1.0
41	3JHNHA	69	HIS	Н	69	HIS	HA	9.2	1.0
42	3.THNHA	70	T.VS	н	70	LVS	ЧΔ	94	1 0
12		70	110	11 TT	70	110	1173	i	1 0
43	3J HNHA	/1	ТГЕ	н	/1	エレビ	HA	5.8	1.0
44	3JHNHA	72	ASP	н	72	ASP	HA	9.6	1.0
45	3 THNHA	73	SER	н	73	SER	HА	7.1	1.0
16		76	TVC	TT	76	TVC	117	F 0	1 0
40	30 HNHA	70	LIS	п	70	LIS	пА	5.0	1.0
47	3J HNHA	78	ASN	н	78	ASN	HA	9.8	1.0
48	3JHNHA	79	TYR	Η	79	TYR	HA	7.0	1.0
49	3 THNHA	80	SER	н	80	SER	HА	9.1	1.0
50	2 TUNUA	01	TVD	U	01	TVD	117	0 1	1 0
50	2 TINHA	01	TIK	п	01	TIK	пА	0.1	1.0
51	3J HNHA	84	THR	н	84	THR	HA	9.8	1.0
52	3JHNHA	85	LEU	Н	85	LEU	HA	7.3	1.0
53	3 THNHA	87	GLU	н	87	GLU	HА	6.4	1.0
5 J	2 TUNUA	00	700	U	00	700	117	2 0	1 0
54	2 TINHA	09	ASP	п	09	ASP	пА	5.0	1.0
55	3J HNHA	91	LEO	Н	91	LEU	HA	6.4	1.0
56	3JHNHA	94	THR	Η	94	THR	HA	10.1	1.0
57	3.THNHA	95	T.EII	н	95	T.ETI	НΔ	8 2	1 0
57 E0		06	CLU	TT	06		117	0.2	1 0
20	JUHNHA	90	GTO	п	90	GLU	ΠА	0.2	1.0
59	JJHNHA	9.7	LYS	н	97	LYS	HA	4.7	1.0
60	3JHNHA	98	ILE	н	98	ILE	HA	9.5	1.0
61	3.THNHA	99	SER	н	99	SER	НΔ	89	1 0
6.2		100	TVD	TT	100		117	0.7	1 0
02	JUHNHA	100	LIK	п	100	LIK	ΠА	0./	1.0
63	JJHNHA	TOT	GLU	н	TOT	GLU	HA	9.4	1.0
64	3JHNHA	103	LYS	Η	103	LYS	HA	8.8	1.0
65	3.THNHA	104	T.EII	н	104	TETI	НΔ	94	1 0
66	2 TUNUA	105	1771	U U	105	177 T	117	0 5	1 0
00	2 TINHA	105	VAL	п	105	VAL	пА	9.5	1.0
67	3J HNHA	107	SER	Н	107	SER	HA	8.1	1.0
68	3JHNHA	112	SER	н	112	SER	HA	8.9	1.0
69	3JHNHA	113	ILE	Н	113	ILE	HA	9.1	1.0
70	3.TUNUA	115	LVC	U	115	LVC	цγ	9 0	1 0
70	2 TIDUIA	110		п	110	010	ПА	9.0	1.0
/1	30 HNHA	TTO	SER	н	TTO	SER	HA	9.3	1.0
72	3JHNHA	117	THR	Η	117	THR	HA	9.8	1.0
73	3JHNHA	118	SER	Н	118	SER	HA	9.6	1.0
74	3.THNHA	119	HIG	н	119	нтс	ЧΔ	84	1 0
75		100	TILD	TT	100		117	76	1 0
/5	30 HNHA	122	THR	н	122	THR	HA	7.0	1.0
./6	3JHNHA	123	LYS	Η	123	LYS	НA	7.4	⊥.0
77	3jhnha	127	GLU	Η	127	GLU	HA	6.7	1.0
78	3 тнина	129	LYS	н	129	LYS	НΔ	7.4	1.0
70	2 TLINITIN	100	UTC	11 TT	120	110 110	ц»	6 0	1 0
19	2 TITE	122	UT2	п	122	nto	пA	0.0	1.0
80	3 J HNHA	133	VAL	Н	133	VAL	HA	7.6	Τ.Ο
81	3jhnha	137	LYS	Η	137	LYS	HA	4.6	1.0
82	3JHNHA	139	LYS	Н	139	LYS	HA	4.8	1.0
82	3.TUNUA	141	QTD	ц	141	CLD	цл	4 0	1 0
03		140	ALC:	17	140	7 D L L	1177	4.0	1 0
84	30 HNHA	142	ASN	н	142	ASN	HА	4.3	Τ.Ο
85	3jhnha	144	PHE	Η	144	PHE	HA	4.3	1.0
86	3 JHNHA	145	LYS	н	145	LYS	HA	4 2	1.0
07	2 TLINTIN	1/0	0110	11	1/0	0111	117	2 6	1 0
8 /	30 HNHA	148	GTD.	н	148	GLU	HА	3.0	1.0
88	3JHNHA	149	THR	Η	149	THR	HA	3.8	1.0
89	3JHNHA	150	TYR	Н	150	TYR	HA	4.4	1.0
90	3,THNHA	151	TTT.T	н	151	117.1	ЧΑ	4 7	1 0
01		101	1 220	11 T T	1	1 100	112	1./	1 0
91	30 HNHA	152	LХS	н	152	LYS	HА	4.4	1.0
92	3JHNHA	154	HIS	Η	154	HIS	HA	10.2	1.0
93	3JHNHA	156	ASP	Н	156	ASP	HA	8.4	1.0
94	З,ТЦМЦЛ	157	AT A	ц	157		μл	6 2	1 0
2 H 0 F		100	ALLA	гі тт	107	ALLA	TT2	0.5	1.0
95	3J HNHA	T28	TYR	Н	128 128	TYR	HА	6.8	τ.Ο
96	3 THNHA	159	ASN	н	159	ASN	HA	9.3	1 0

## 10.2.2 J-Kopplungskonstanten von Gly m 4

1	3JHNHA	3	PHE	Н	3	PHE	HA	9.6	1.0
2	3JHNHA	4	THR	Η	4	THR	HA	9.2	1.0
3	3JHNHA	7	ASP	Η	7	ASP	HA	8.9	1.0
4	3jhnha	13	VAL	Η	13	VAL	HA	6.7	1.0
5	3JHNHA	14	ALA	Η	14	ALA	HA	3.0	1.0

б	3JHNHA	17	THR	Н	17	THR	HA	7.2	1.0
7	3JHNHA	18	LEU	Η	18	LEU	HA	3.7	1.0
8	3JHNHA	20	LYS	H	20	LYS	HA	3.6	1.0
10	3 J HNHA 2 TUNUA	21	ALA	H	21	ALA	HA	4.5	1.0
11	3.THNHA	22	VAL.	п	22	VAL.	НΔ	10 2	1.0
12	3 JHNHA	24	THR	H	24	THR	HA	4.2	1.0
13	3JHNHA	25	ASP	Н	25	ASP	HA	10.1	1.0
14	3JHNHA	26	ALA	Н	26	ALA	HA	2.3	1.0
15	3JHNHA	27	ASP	Η	27	ASP	HA	3.8	1.0
16	3JHNHA	32	LYS	Η	32	LYS	HA	8.7	1.0
17	3JHNHA	34	LEU	H	34	LEU	HA	7.5	1.0
18	3JHNHA	36	SER	н	36	SER	HA	6.9	1.0
20	3 J HNHA 2 TUNUA	39	SER VAT	н u	39	SER WAT	HA UN	0.4	1.0
21	3.THNHA	40	GLII	н	40	GLII	ΗA	7.6	1 0
22	3 JHNHA	43	VAL	н	43	VAL	HA	8.9	1.0
23	3JHNHA	44	GLU	Н	44	GLU	HA	7.0	1.0
24	3JHNHA	46	ASN	Η	46	ASN	HA	8.6	1.0
25	3jhnha	51	THR	Η	51	THR	HA	3.8	1.0
26	3JHNHA	52	ILE	Η	52	ILE	HA	9.6	1.0
27	3JHNHA	53	LYS	н	53	LYS	HA	9.5	1.0
28	3 J HNHA 2 TUNUA	54	LIS	H	54	LIS	HA	8.8	1.0
30	3.THNHA	58	LTE	п	58	LTE	НΔ	9.5	1.0
31	3 JHNHA	60	ASP	H	60	ASP	HA	6.4	1.0
32	3JHNHA	62	GLU	Н	62	GLU	HA	8.9	1.0
33	<b>3JHNHA</b>	64	LYS	Н	64	LYS	HA	9.2	1.0
34	3JHNHA	65	PHE	Η	65	PHE	HA	8.0	1.0
35	3JHNHA	66	VAL	Η	66	VAL	HA	9.0	1.0
36	3JHNHA	67	LEU	Η	67	LEU	HA	6.8	1.0
37	3JHNHA	68	HIS	H	68	HIS	HA	8.7	1.0
38	3 J HNHA 2 TUNUA	09 70	LIS	н u	69 70	LIS	HA UN	9.2	1.0
40	3.THNHA	70	GUII	н	70	GUII	ΗA	9.2	1 0
41	3 JHNHA	72	SER	н	72	SER	HA	6.7	1.0
42	3JHNHA	73	ILE	Н	73	ILE	HA	8.6	1.0
43	3JHNHA	77	ASN	Η	77	ASN	HA	9.8	1.0
44	3jhnha	78	LEU	Η	78	LEU	HA	6.9	1.0
45	3JHNHA	80	TYR	Η	80	TYR	HA	7.0	1.0
46	3JHNHA	81	SER	H	81	SER	HA	8.7	1.0
47	3JHNHA	82	TYR	н	82	TYR	HA	7.5	1.0
48 40	3JHNHA 2.TUNUA	83	VAT.	н u	83	VAL.	НА ЦЛ	9.5	1.0
49 50	3.THNHA	85	VAL VAL	п	85	VAL VAL	НΔ	10.9	1.0
51	3JHNHA	89	ALA	H	89	ALA	HA	8.2	1.0
52	3JHNHA	90	LEU	Н	90	LEU	HA	8.4	1.0
53	3JHNHA	92	ASP	Η	92	ASP	HA	3.4	1.0
54	3JHNHA	93	THR	Η	93	THR	HA	8.6	1.0
55	3JHNHA	94	ALA	H	94	ALA	HA	7.5	1.0
56	3JHNHA	97	LLE	н	97	LLE	HA	9.5	1.0
5/	3JHNHA 3.TUNUA	98	THR	H	98	THR	HA UA	8.5	1.0
59	3.THNHA	101	SER	н	101	SER	HΔ	9.5	1 0
60	3JHNHA	102	LYS	H	102	LYS	HA	6.9	1.0
61	3JHNHA	103	LEU	Н	103	LEU	HA	6.9	1.0
62	3JHNHA	104	VAL	Η	104	VAL	HA	9.1	1.0
63	3JHNHA	105	ALA	Η	105	ALA	HA	3.7	1.0
64	3JHNHA		SER	Н		SER	HA	8.9	1.0
65	3 J HNHA 2 TUNUA	115	ALA	H	115	ALA	HA	8.6	1.0
67	3.THNHA	116	THR	п	116	THR	НΔ	9.4	1.0
68	3 JHNHA	117	VAL	н	117	VAL	HA	9.5	1.0
69	3JHNHA	118	LYS	H	118	LYS	HA	9.4	1.0
70	<b>3JHNHA</b>	119	TYR	Н	119	TYR	HA	8.9	1.0
71	3jhnha	120	GLU	Η	120	GLU	HA	9.3	1.0
72	3JHNHA	121	THR	Η	121	THR	HA	8.4	1.0
73	3JHNHA	122	LYS	Н	122	LYS	HA	6.3	1.0
74	3JHNHA	124	ASP	H	124	ASP	HA	7.3	1.0
75 76	3 ТПИПУ З ПИННА	⊥⊿⊃ 126	ALA CLU	п ц	⊥⊿⊃ 126	ALA CLU	пА ЦЛ	5.3 7 0	1 0
77	3JHNHA	130	ASP	Н	130	ASP	HA	5.8	1.0
78	3JHNHA	133	LYS	H	133	LYS	HA	4.6	1.0
79	3JHNHA	134	THR	Η	134	THR	HA	5.4	1.0
80	3jhnha	138	LYS	Η	138	LYS	HA	5.1	1.0
81	3JHNHA	139	ALA	Η	139	ALA	HA	5.5	1.0
82	3JHNHA	140	ASP	H	140	ASP	HA	4.6	1.0
83 01		⊥4⊥ 140	ALA	H	⊥4⊥ 140	ALA	HA U 7	3.7	1.0
04 85	2.TUNUA	151	АЦА Т.Б.Т.	п บ	151	АЦА Т.Б.Т.	пА цл	5.5	1 0
86	3JHNHA	151	ΔΤ,Δ	н	152	AT.A	ΗΔ	7.6	1.0
87	3JHNHA	153	HIS	H	153	HIS	HA	10.1	1.0
88	3JHNHA	156	TYR	H	156	TYR	HA	5.3	1.0
89	3JHNHA	157	ASN	н	157	ASN	HA	7.9	1.0

#### 10.2.3 J-Kopplungskonstanten von Bet v 4

1	3JHNHA	2	ASP	Η	2	ASP	HA	6.9	1.0
2	3JHNHA	4	HIS	Η	4	HIS	HA	7.9	1.0
3	3JHNHA	6	GLN	Η	6	GLN	HA	5.6	1.0
4	3JHNHA	7	ASP	Н	7	ASP	HA	5.8	1.0
5	3JHNHA	8	LYS	Н	8	LYS	HA	3.7	1.0
67	3 J HNHA	10	ALA	H	10	ALA	HA	4.0	1.0
0	3 J HNHA	11	GLU NDC	H	11	GLU	HA	4.9	1.0
a	2.TUNUA	12	CLU	п	12	CLU	пА ЦЛ	4.4	1.0
10	2.TUNUA	13	APC	и Ц	13	APC		4 0	1.0
11	3.THNHA	14	TLE	H	14	TLE	HA	5.2	1.0
12	3JHNHA	16	LYS	Н	16	LYS	HA	4.2	1.0
13	3JHNHA	17	ARG	Н	17	ARG	HA	5.6	1.0
14	3JHNHA	18	PHE	Н	18	PHE	HA	6.7	1.0
15	3JHNHA	19	ASP	Η	19	ASP	HA	5.7	1.0
16	3JHNHA	20	ALA	Η	20	ALA	HA	2.4	1.0
17	3JHNHA	21	ASN	Η	21	ASN	HA	8.5	1.0
18	3JHNHA	23	ASP	Η	23	ASP	HA	8.7	1.0
19	3JHNHA	25	LYS	Η	25	LYS	HA	8.2	1.0
20	3JHNHA	26	ILE	Η	26	ILE	HA	8.6	1.0
21	3JHNHA	27	SER	H	27	SER	HA	7.2	1.0
22	3JHNHA	28	ALA	Н	28	ALA	HA	3.1	1.0
23	3JHNHA	30	GLU	Н	30	GLU	HA	5.2	1.0
24	3 J HNHA	3⊥ 22	CIU	H	31		HA	4.0	1.0
25	3 J HNHA 2 TUNUA	33	GLU AT A	H U	33	GLU	HA UN	4.4	1.0
20	2.TUNUA	34	TETT	п U	25	LEII	пА	47	1.0
28	3.THNHA	36	LVS	н	35	LVS	ΗΔ	3 8	1.0
29	3.THNHA	37	THR	н	30	THR	HΔ	5.0	1 0
30	3JHNHA	38	LEU	Н	38	LEU	HA	7.0	1.0
31	3JHNHA	40	SER	H	40	SER	HA	7.1	1.0
32	<b>3JHNHA</b>	41	ILE	Н	41	ILE	HA	8.1	1.0
33	3JHNHA	42	THR	Η	42	THR	HA	6.3	1.0
34	3JHNHA	45	GLU	Η	45	GLU	HA	6.1	1.0
35	3JHNHA	46	VAL	Η	46	VAL	HA	4.7	1.0
36	3JHNHA	47	LYS	Η	47	LYS	HA	3.7	1.0
37	3JHNHA	48	HIS	Η	48	HIS	HA	4.9	1.0
38	3JHNHA	49	MET	Н	49	MET	HA	5.2	1.0
39	3JHNHA	50	MET	Н	50	MET	HA	3.5	1.0
40	3JHNHA	51	ALA	Н	51	ALA	HA	3.9	1.0
41 40	3 J HNHA	5Z	GLU	H	52 E 4	GLU	HA	6.5	1.0
42	2 TUNUA	54	ASP TUD	п	54	ASP TUD	пА uл	5.5	1.0
44	3.THNHA	56	ASP	н	56	ASP	HΔ	8 4	1 0
45	3.THNHA	58	ASP	н	58	ASP	HA	7.9	1.0
46	3JHNHA	60	PHE	H	60	PHE	HA	9.3	1.0
47	<b>3JHNHA</b>	61	ILE	Н	61	ILE	HA	8.3	1.0
48	3JHNHA	62	SER	Η	62	SER	HA	7.3	1.0
49	3JHNHA	63	PHE	Η	63	PHE	HA	3.2	1.0
50	3JHNHA	64	GLN	Η	64	GLN	HA	4.4	1.0
51	3JHNHA	65	GLU	Η	65	GLU	HA	4.6	1.0
52	3JHNHA	66	PHE	Η	66	PHE	HA	4.2	1.0
53	3JHNHA	68	ASP	Η	68	ASP	HA	4.1	1.0
54	3JHNHA	69	PHE	Н	69	PHE	HA	4.8	1.0
55	3JHNHA	71	ARG	Н	71	ARG	HA	5.2	1.0
56	3JHNHA	72	ALA	Н	72	ALA	HA	7.9	1.0
57		73	ADO	н ч	73	ADO	пА UN	9.U 4 E	1.0
50 50	ЗО ПИНА З.ТИМИЛ	74	AKG LETT	н ц	74	AKG LETT	пА цл	4.5 5 0	1.0
59	3.THNHA	77		ч	77	1.511	ΗZ	J.2 7 0	1 0
61	3 THNHA	78	LVS	н	78	LVS	ΗA	49	1 0
62	3JHNHA	79	ASP	н	79	ASP	HA	6.4	1.0
63	3JHNHA	80	VAL	H	80	VAL	HA	6.1	1.0
64	3JHNHA	81	ALA	н	81	ALA	HA	4.6	1.0
65	3JHNHA	82	LYS	Н	82	LYS	HA	6.4	1.0
66	3JHNHA	84	PHE	Η	84	PHE	HA	8.8	1.0

#### 10.3 Dipolare Kopplungskonstanten

Die gemessenen dipolaren Kopplungskonstanten sind in der Reihenfolge Sequenzposition, skalare Kopplungskonstante  ${}^{1}J_{N HN}$  mit statistischem Fehler,  ${}^{1}J_{N HN} + D_{N HN}$  mit statistischem Fehler und dipolare Kopplungskonstante  $D_{N HN}$  mit gesamtem Fehler angegeben.

### 10.3.1 Dipolare Kopplungskonstanten von Gly m 4

$\begin{smallmatrix} 2 & 3 & 4 & 7 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 2 & 2 & 2 & 2 & 2 & 2 &$	$\begin{array}{c} -93.01\\ -93.80\\ -93.17\\ -93.44\\ -94.65\\ -92.50\\ -93.90\\ -93.80\\ -93.48\\ -94.35\\ -92.20\\ -93.78\\ -92.20\\ -93.78\\ -94.47\\ -92.61\\ -93.23\\ -91.92\\ -93.84\\ -94.57\\ -93.07\\ -93.07\\ -93.07\\ -93.07\\ -93.07\\ -93.07\\ -93.07\\ -93.07\\ -93.46\\ -92.26\\ -92.48\\ -92.26\\ -92.48\\ -92.26\\ -92.48\\ -92.26\\ -93.38\\ -92.40\\ -92.81\\ -93.32\\ -92.81\\ -93.32\\ -92.81\\ -93.32\\ -92.81\\ -93.32\\ -92.81\\ -93.32\\ -92.81\\ -93.32\\ -92.81\\ -93.32\\ -92.69\\ -93.74\\ -94.02\\ -92.69\\ -93.74\\ -93.22\\ -92.41\\ -93.60\\ -92.26\\ -93.74\\ -93.22\\ -92.41\\ -93.60\\ -92.69\\ -93.74\\ -92.73\\ -94.02\\ -92.69\\ -93.74\\ -93.60\\ -92.69\\ -93.74\\ -92.69\\ -93.74\\ -93.60\\ -92.69\\ -93.74\\ -93.60\\ -92.69\\ -93.74\\ -93.60\\ -92.69\\ -93.74\\ -93.60\\ -92.69\\ -93.62\\ -92.44\\ -93.25\\ -93.62\\$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	0.11 0.19 0.13 0.06 0.04 0.11 0.16 0.07 0.32 0.15 0.06 0.21 0.08 0.02 0.14 0.18 0.02 0.14 0.039 0.25 0.22 0.34 0.19 0.20 0.20 0.109 0.20 0.109 0.20 0.110 0.09 0.20 0.12 0.09 0.20 0.12 0.09 0.20 0.12 0.09 0.20 0.110 0.09 0.20 0.12 0.09 0.07 0.05 0.220 0.109 0.07 0.05 0.211 0.09 0.07 0.120 0.09 0.07 0.120 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.112 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.110 0.09 0.07 0.110 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.07 0.121 0.09 0.111 0.09 0.112 0.09 0.111 0.09 0.111 0.09 0.111 0.09 0.111 0.09 0.111 0.09 0.111 0.012 0.09 0.111 0.012 0.012 0.011 0.012 0.011 0.012 0.011 0.011 0.011 0.021 0.021 0.021 0.021 0.031 0.021 0.031 0.021 0.031 0.021 0.031 0.021 0.031 0.031 0.021 0.031 0.021 0.031 0.031 0.021 0.031 0.031 0.031 0.030 0.031 0.0300 0.0300 0.0300 0.0300 0.0300 0.0300 0.03	$\begin{array}{c} -3.85\\ -5.90\\ -1.32\\ -6.91\\ -0.95\\ 4.30\\ -7.22\\ -6.53\\ 2.37\\ 3.36\\ -4.20\\ -1.48\\ -5.31\\ -8.88\\ -7.50\\ -6.08\\ -8.31\\ -8.29\\ -6.39\\ -7.40\\ -6.08\\ -8.31\\ -8.29\\ -7.40\\ -6.08\\ -8.31\\ -8.29\\ -7.40\\ -6.08\\ -8.31\\ -7.50\\ -7.40\\ -6.08\\ -8.31\\ -7.50\\ -7.40\\ -6.08\\ -8.35\\ -6.06\\ 2.68\\ -8.98\\ -4.79\\ -7.50\\ -7.50\\ -7.50\\ -7.49\\ 16.50\\ -7.50\\ -7.50\\ -9.04\\ -8.35\\ -6.06\\ 2.68\\ 8.39\\ -0.87\\ -4.50\\ -9.24\\ -8.29\\ -9.24\\ -8.29\\ -9.24\\ -8.29\\ -8.29\\ -9.24\\ -8.29\\ -$	$\begin{array}{c} 0.33\\ 0.36\\ 0.33\\ 0.31\\ 0.32\\ 0.51\\ 0.34\\ 0.32\\ 0.31\\ 0.34\\ 0.36\\ 0.32\\ 0.37\\ 0.31\\ 0.34\\ 0.35\\ 0.37\\ 0.31\\ 0.34\\ 0.35\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0.331\\ 0.332\\ 0$
$\begin{array}{c} 757\\778\\882\\884\\886\\992\\996\\997\\990\\10012\\1004\\1105\\1012\\1114\\1115\\1118\\1115\\1118\\1118\\1118\\1118$	-93.42 -92.61 -94.33 -94.33 -91.98 -91.94 -93.60 -93.84 -92.24 -92.54 -92.54 -92.54 -93.50 -93.52 -93.550 -94.27 -92.99 -94.07 -92.99 -94.07 -92.75 -93.60 -93.80 -93.82 -93.275	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	0.16 0.16 0.7 0.34 0.18 0.15 0.09 0.14 0.19 0.14 0.19 0.14 0.19 0.14 0.19 0.14 0.19 0.04 0.25 0.31 0.08 0.23 0.04 0.09 0.11 0.13 0.09 0.11 0.15 0.22 0.04 0.09 0.11 0.12 0.01 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.02 0.12 0.04 0.09 0.11 0.05 0.15 0.22 0.04 0.09 0.11 0.12 0.04 0.09 0.11 0.01 0.02 0	$\begin{array}{c} -9.37\\ 1.12\\ -2.29\\ -6.41\\ -6.91\\ -7.36\\ -7.28\\ -4.70\\ 9.22\\ 7.76\\ 10.99\\ -7.95\\ -9.41\\ -2.80\\ -6.00\\ -5.31\\ -3.79\\ 1.14\\ -7.91\\ -1.50\\ -8.90\\ -6.29\\ -8.49\\ -5.21\\ -6.83\\ -4.52\\ -5.11\\ -1.54\\ -6.49\\ -4.16\\ -6.99\\ -4.11\\ -8.39\\ -2.49\\ -7.40\\ -0.24\end{array}$	0.34 0.32 0.46 0.37 0.31 0.36 0.31 0.36 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.331 0.332 0.332 0.332 0.332 0.332 0.332 0.332 0.332 0.332 0.332 0.335 0.332 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.335 0.355 0.3

119 120 121 122 123 124 125 126 128 130 132	-93.68 -94.47 -94.39 -92.75 -94.53 -93.19 -94.43 -93.25 -93.42 -94.00 -93.96	0.02 0.02 0.06 0.04 0.02 0.02 0.02 0.02 0.04 0.02 0.07	-101.40 -94.37 -101.75 -100.47 -97.07 -85.98 -99.40 -88.27 -100.04 -80.06 -88.81 -270	0.13 0.17 0.15 0.14 0.04 0.69 0.05 0.05 0.05 0.15 0.02 0.14	-7.72 0.10 -7.36 -7.72 -2.53 7.22 -4.97 4.99 -6.63 13.95 5.15 9.99	0.33 0.35 0.34 0.33 0.30 0.78 0.31 0.31 0.34 0.30 0.34
133	-93.00	0.02	-79 00	0.08	9.89 14.82	0.31
135	-94.86	0.05	-87.76	0.06	7.10	0.31
136	-93.23	0.13	-88.79	0.15	4.44	0.36
137	-94.13	0.02	-80.12	0.02	14.01	0.30
138	-94.02	0.06	-82.41	0.28	11.62	0.41
139	-93.80	0.02	-86.12	0.16	7.68	0.34
140	-93.92	0.04	-82.18	0.34	11.74	0.45
141	-94.04	0.04	-77.79	0.23	16.26	0.38
143	-93.44	0.05	-79.45	0.48	13.99	0.57
144	-93.76	0.02	-78.19	0.52	15.57	0.60
148	-94.08	0.04	-76.87	0.15	17.21	0.34
149	-94.23	0.02	-83.71	0.19	10.52	0.36
150	-94.75	0.10	-80.79	0.44	13.97	0.54
151	-94.49	0.02	-76.55	0.07	17.94	0.31
152	-93.58	0.02	-82.10	0.14	11.47	0.33
153	-93.66	0.07	-90.11	0.18	3.55	0.36
155	-92.75	0.00	-97.31	0.09	-4.56	0.31
156	-93.66	0.04	-98.28	0.06	-4.62	0.31
157	-93.29	0.04	-100.27	0.04	-6.97	0.30

## 10.3.2 Dipolare Kopplungskonstanten von Bet v 4

2	-93.48	0.06	-98.63	0.70	-5.15	0.76
3	-93.44	0.02	-98.30	0.04	-4.87	0.30
4	-93.62	0.02	-103.15	0.07	-9.53	0.31
6	-93.01	0.02	-105.92	0.12	-12.91	0.32
9	-93.82	0.11	-116.95	0.46	-23.13	0.56
10	-94.00	0.05	-109.65	0.00	-15.65	0.30
11	-93.74	0.20	-109.69	0.25	-15.96	0.44
12	-93.78	0.06	-119.24	0.19	-25.46	0.36
13	-94.02	0.15	-116.63	0.37	-22.60	0.50
14	-93.76	0.07	-108.76	0.12	-15.00	0.33
15	-93.52	0.15	-114.54	0.34	-21.02	0.47
17	-93.96	0.04	-110.40	0.18	-16.44	0.35
20	-92.71	0.02	-90.46	0.04	2.25	0.30
21	-94.88	0.00	-84.90	0.07	9.9/	0.31
22	-95.61	0.00	-92.36	0.02	3.24	0.30
23	-95.20	0.02	-93.00	0.09	10 02	0.31
24	-93.40	0.00	-/3.05	0.08	19.03	0.31
25	-94.02	0.04	-97.99	0.04	5 09	0.30
20	-95 12	0.02	-81 19	0.04	13 93	0.30
28	-93 80	0.04	-86 06	0.10	7 74	0.32
29	-94 45	0.03	-86 64	0.00	7 81	0.30
31	-94.49	0.02	-82.79	0.02	11.70	0.30
32	-94.79	0.02	-91.21	0.04	3.59	0.30
33	-94.29	0.04	-81.80	0.16	12.49	0.34
34	-94.39	0.06	-75.88	0.19	18.51	0.36
35	-93.76	0.05	-87.30	0.03	6.46	0.31
36	-94.25	0.02	-90.25	0.06	3.99	0.31
37	-93.09	0.02	-78.88	0.07	14.21	0.31
38	-92.81	0.04	-82.47	0.10	10.34	0.32
40	-92.99	0.04	-95.18	0.04	-2.19	0.30
41	-93.21	0.02	-92.48	0.02	0.73	0.30
42	-94.07	0.05	-97.13	0.27	-3.06	0.41
44	-94.35	0.02	-86.06	0.06	8.29	0.31
45	-94.31	0.02	-78.82	0.10	15.49	0.32
4/	-93.94	0.04	-91.71	0.22	2.23	0.37
48	-94.19	0.14	- /9. /5	0.35	14.43	0.48
50	-94.27	0.00	-90.00	0.05	-2.33	0.30
52	-93 80	0.00	-76 63	0.07	17 17	0.31
53	-92 46	0.01	-96 52	0.15	-4 06	0.33
54	-93.78	0.10	-96.80	0.23	-3.02	0.39
56	-94.94	0.06	-81.78	0.21	13.16	0.37
57	-95.32	0.02	-94.43	0.07	0.89	0.31
58	-95.79	0.04	-119.16	0.12	-23.37	0.33
59	-93.80	0.02	-102.86	0.05	-9.06	0.31
60	-94.00	0.02	-76.21	0.10	17.80	0.32
61	-92.40	0.02	-78.21	0.07	14.19	0.31
62	-95.28	0.02	-82.14	0.16	13.14	0.34
63	-93.84	0.04	-92.52	0.02	1.32	0.30
64	-94.02	0.13	-97.88	0.04	-3.85	0.33
66	-94.47	0.02	-94.21	0.04	0.26	0.30

68 69	-94.73 -93.82	0.13	-101.38	$0.04 \\ 0.05$	-6.65 -3.39	0.33
70	-94.96	0.11	-91.29	0.15	3.67	0.35
71	-93.42	0.00	-91.69	0.15	1.72	0.33
72	-93.60	0.09	-104.22	0.12	-10.62	0.34
73	-93.36	0.13	-88.06	0.23	5.29	0.40
74	-93.62	0.05	-85.88	0.34	7.74	0.45
75	-94.43	0.02	-81.72	0.07	12.71	0.31
76	-93.76	0.16	-75.56	0.34	18.21	0.48
77	-93.96	0.09	-83.28	0.16	10.68	0.35
78	-93.52	0.14	-83.48	0.35	10.03	0.48
80	-93.40	0.11	-78.03	0.37	15.37	0.49
81	-94.21	0.06	-88.08	0.07	6.12	0.31
82	-93.40	0.07	-85.69	0.25	7.70	0.40
83	-92.71	0.36	-75.64	0.19	17.07	0.51
84	-92.55	0.02	-92.67	0.05	-0.12	0.31

### 10.4 Heteronukleare NOEs von Pru av 1 wt

Die gemessenen heteronuklearen  $\{{}^{1}H\}{}^{15}N$ -NOEs sind im Format der BioMagResBank angegeben.

1 2 3	2 3 4	VAL PHE THR	N N N	H H H	0.662 0.754 0.759	0.058 0.031 0.056
4	5	TYR GLU	N N	H H	0.782	0.026
6 7	8	SER GLU	N N	н Н	$0.691 \\ 0.414$	$0.024 \\ 0.017$
8 9	9 10	PHE THR	N N	H H	0.715 0.682	0.051 0.024
10 11	11 12	SER GLU	N N	H H	0.709 0.662	0.024 0.024
12	13 17	ILE ARG	N N	Н Н	0.735	0.025
14	18	LEU	N	H	0.768	0.029
16	20	LYS	N	н Н	0.812	0.028
17 18	21 22	ALA PHE	N N	H H	0.776 0.797	0.027 0.054
19 20	23 24	VAL LEU	N N	H H	0.763 0.755	0.025 0.025
21 22	25 26	ASP AT.A	N N	H H	0.781	0.029 0.040
23	27	ASP	N	H	0.784	0.028
25	30	VAL	N	Н	0.711	0.025
26 27	32	ILE	N	н Н	0.658	0.035
28 29	36 37	GLN ALA	N N	H H	0.643 0.658	0.023 0.033
30 31	38 40	ILE HIS	N N	H H	0.630 0.708	0.069 0.025
32 33	41 42	SER GLU	N N	H H	0.686	0.024
34	44	LEU	N	H	0.803	0.028
36	46	GLY	N	H	0.699	0.024
37	47	GLY	N	н Н	0.673	0.029
39 40	49 51	GLY GLY	N N	H H	0.717 0.687	0.036 0.023
41 42	52 53	THR ILE	N N	H H	0.775 0.731	0.032 0.027
43 44	54 55	LYS LYS	N N	H H	0.680 0.716	0.034 0.024
45 46	56	ILE THR	N N	Н Н	0.752	0.025
47	58	PHE	N	H	0.781	0.029
40	60	GLU	N	Н	0.489	0.027
50 51	61 64	GLY TYR	N N	H H	0.359	0.017
52 53	65 66	GLY TYR	N N	H H	0.688 0.725	0.053 0.045
54 55	67 68	VAL LYS	N N	H H	0.809 0.750	0.033 0.026
56 57	69 70	HIS LYS	N N	H H	0.956	0.084
58 59	71 72	ILE	N	H	0.762	0.027
60 61	73 74	SER	N	H	0.730	0.025
<u> </u>	, 1	فتفتع	<b>T</b> N	**	0.100	0.020

623465678901234456789012345678901234 99999999999901203456789011234	76 78 79 80 81 82 83 84 85 87 88 89 91 92 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 110 1112 113 115 116 117 118 119 122 123 126 127 128 129 131 132 133 134 135 136 137	LYS ASNR TYER RT HEUUY GLUY HUUUS ER RUU GLUY ER RUU GLUY ER RUU ST GLUR ST GLUR ST GLUR ST GLUR ST GLUR ST ST HEUU ST GLUY CLUY CLUY CLUY CLUY CLUY CLUY CLUY C	א א א א א א א א א א א א א א א א א א א	нн н н н н н н н н н н н н н н н н н н	0.736 0.688 0.691 0.733 0.764 0.798 0.749 0.660 0.757 0.750 0.710 0.714 0.6573 0.698 0.689 0.7573 0.698 0.689 0.7573 0.698 0.689 0.7573 0.698 0.7573 0.698 0.689 0.7573 0.698 0.7573 0.698 0.7573 0.698 0.7573 0.698 0.7573 0.698 0.755 0.6959 0.755 0.6701 0.7750 0.788 0.7750 0.755 0.6595 0.6595 0.6595 0.6588 0.7733 0.6888 0.7733 0.6888 0.7733 0.67846 0.5222 0.4552 0.6720 0.714 0.709 0.714 0.5222 0.714 0.709 0.714 0.709 0.715 0.678 0.678 0.5222 0.714 0.709 0.7578 0.678 0.678 0.678 0.678 0.5222 0.714 0.709 0.7578 0.678 0.678 0.5922 0.7578 0.678 0.5922 0.714 0.709 0.7578 0.678 0.678 0.678 0.678 0.6792 0.714 0.709 0.7578 0.678 0.678 0.678 0.678 0.6792 0.714 0.709 0.725 0.678 0.678 0.6792 0.715 0.678 0.6792 0.715 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.678 0.666 0.678 0.666 0.678	0.026 0.026 0.023 0.028 0.027 0.028 0.025 0.025 0.025 0.025 0.026 0.024 0.027 0.024 0.027 0.023 0.023 0.023 0.027 0.024 0.026 0.029 0.025 0.025 0.026 0.027 0.026 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.022 0.025 0.022 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.022 0.025 0.022 0.022 0.025 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.022 0.024 0.024 0.024 0.026 0.022 0.014 0.026 0.022 0.019 0.022 0.025 0.022 0.021 0.026 0.022 0.025 0.022 0.024 0.022 0.024 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.027 0.022 0.022 0.025 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.025 0.022 0.025 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.022 0.025 0.025 0.025 0.025 0.026 0.026 0.026 0.026 0.026 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.025 0.026 0.026 0.026 0.025 0
104 105 107 108 107 111 112 111 112 113 114 115 116 117 118 122 123 124 122 123 124 125 126 127 128 129 127 128 129 129 129 129 130	127 128 129 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 1445 1445 146 1451 152 1551 152 1554 156	GLU ILYS GLU HIS LYS ALA GLYS ALA GLYS ALA LYS ALA LYS LYS LEU GLU THR TYR LYS GLYS ALA ASP		н н н н н н н н н н н н н н н н н н н	0.526 0.522 0.455 0.632 0.714 0.709 0.715 0.678 0.666 0.694 0.632 0.743 0.734 0.734 0.735 0.699 0.757 0.818 0.750 0.773 0.759 0.759 0.759 0.759 0.759 0.750 0.773 0.759 0.750 0.773 0.750 0.775 0.7746 0.7705	0.029 0.019 0.018 0.021 0.026 0.026 0.025 0.025 0.021 0.025 0.021 0.025 0.021 0.023 0.033 0.030 0.070 0.026 0.031 0.026 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.025 0.024 0.025 0.023 0.025 0.023 0.026 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.032 0.025 0.024 0.025 0.023 0.026 0.032 0.032 0.032 0.032 0.025 0.025 0.025 0.0225 0.023
⊥3⊥ 132 133	157 158 159	ALA TYR ASN	N N N	H H H	0.746 0.630 0.539	0.039 0.050 0.025

## 10.5 Experimentelle Randbedingungen

Die experimentellen Randbedingungen sind in einem verkürzten X-PLOR-Format angegeben.

#### 10.5.1 Experimentelle Randbedingungen für Pru av 1 E45W

### 10.5.1.1 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D-1H,15N-NOESY-HSQC

(	2	and	name	HN	)	( 1	and	name	нд1	) 35	( 2	and	name	HN	) (	1	and	name	нд2	) 35
ì	2	and	nomo	TINT	``		and	nomo	11111	) 3.5 ) 3 E	( <u>1</u>	and	nomo	TINT		5	and	nomo	TID	) 3.3
(	2	and	name	HIN	!		ana	name	на	) 3.5		and	name	HIN		2	ana	Itallie	пв	) 2.7
(	2	and	name	HN	)	(2)	and	name	HG1*	) 3.5	(2)	and	name	HN	) (	-2	and	name	HG2*	) 5.0
(	3	and	name	HN	)	( 2	and	name	HA	) 2.7	( 3	and	name	HN	) (	2	and	name	HG1*	) 5.0
ì	3	and	name	HN	í	i 2	and	name	HG2*	3 5	í 3	and	name	HN	ìì	2	and	name	HN	50
ì	2	and	namo	LINT	ί.	2	and	nomo	UN	) 2 5	$\frac{3}{2}$	and	namo	UN	ì	2	and	nomo	UD1	) 2.5
,	5	anu	name	HIN	<i>!</i>		anu	name	па	3.5		anu	name	LIN		5	anu	Itallie	пы	) 3.5
(	3	and	name	HN	)	( 3	and	name	HB2	) 3.5	( 3	and	name	HN	) (	3	and	name	HD*	) 3.5
(	3	and	name	HN	)	( 4	and	name	HN	) 5.0	( 3	and	name	HN	) (	5	and	name	HE *	) 5.0
(	3	and	name	HN	)	(119)	and	name	HA	) 5.0	( 3	and	name	HN	) (1	120	and	name	HB1	) 5.0
ì	2	and	namo	UN	ś	(120	and	namo	UD2	50	í z	and	namo	UN		120	and	namo	UN	5 0
\	2	and	manie	1110	<u>,</u>	(120	anu	manie	IID2	) 5.0		and	manie	1110	/ <u>}</u> -	120	anu	manie	TIN TROOM	) 5.0
(	3	and	name	HN	)	(121	and	name	HA	) 5.0	( 4	and	name	HN	) (	-2	and	name	HG2*	) 5.0
(	4	and	name	HN	)	( 3	and	name	HA	) 2.7	( 4	and	name	HN	) (	3	and	name	HB1	) 3.5
(	4	and	name	HN	)	( 3	and	name	HB2	) 5.0	( 4	and	name	HN	) (	3	and	name	HD*	) 5.0
ì	1	and	namo	LINT	ί.		and	nomo	U7	) 2 5		and	namo	UN	ì	1	and	nomo	UD	, 5.0
,	-	anu	name	HIN	<i>!</i>	( +	anu	name	пА	, 3.5	( =	anu	name	LIN		7	anu	Itallie	пь	) 2.7
(	4	and	name	HN	)	( 4	and	name	HG2*	) 5.0	( 5	and	name	HN	) (	4	and	name	HA	) 2.7
(	5	and	name	HN	)	( 4	and	name	HB	) 5.0	(5	and	name	HN	) (	4	and	name	HG2*	) 3.5
ì	5	and	name	HN	í	i 4	and	name	HN	5 0	( <u>5</u>	and	name	HN	ìì	5	and	name	НА	) 35
;	5	and	manic	TINT	ζ.	) <u>-</u>	and	manic	III I	, 5.0		and	manne	TINT		5	and	manue	1111	) 3.5 ) 3.5
(	5	and	name	HIN	)	( 5	and	name	HBI	) 5.0	( 5	and	name	HIN	) (	5	and	name	HBZ	) 3.5
(	5	and	name	HN	)	( 5	and	name	HD*	) 3.5	( 5	and	name	HN	) (	6	and	name	HA	) 5.0
(	5	and	name	HN	)	(117)	and	name	HA	) 5.0	(5	and	name	HN	) (1	117	and	name	HG2*	) 5.0
ì	5	and	name	HN	í	1118	and	name	ив*	5 0	6 5	and	name	HN	ìì	118	and	name	HN	) 35
;	5	and	manic	TINT	ζ.	(110	and	manic	1110	) 3.0		and	manic	TIN	/ (-	1 2 0	and	manic		, 5.5
(	2	and	name	HIN	)	(119	and	name	на	) 3.5	( 5	and	name	HIN	) (-	LZU	and	name	HD^	) 5.0
(	6	and	name	HN	)	( 4	and	name	HG2*	) 5.0	(6	and	name	HN	) (	5	and	name	HA	) 2.7
(	б	and	name	HN	)	( 5	and	name	HB1	) 3.5	(б	and	name	HN	) (	5	and	name	HB2	) 5.0
ì	6	and	name	HN	í.	<i>i</i> 5	and	name	HD*	50	i 6	and	name	HN	ì	6	and	name	НΔ	) 35
ì	ć	and	nomo	TINT	``	i c	and	nomo		) 5.0 ) E 0	i e	and	nomo	TINT		ć	and	nomo	110.0	) 3.5 ) 3 E
(	0	and	name	HIN	!	( 0	ana	name	пы	, 5.0		and	name	HIN			ana	Itallie	пви	) 3.5
(	6	and	name	HN	)	( 6	and	name	HG*	) 3.5	(6	and	name	HN	) (1	TT8	and	name	HN	) 5.0
(	7	and	name	HN	)	( 6	and	name	HA	) 2.7	(7	and	name	HN	) (	б	and	name	HB1	) 3.5
ì	7	and	namo	UN	Ń	i 6	and	namo	UD2	50	ì 7	and	namo	UN	ì	6	and	namo	UC*	) 35
;	<i>'</i>	and	manie	TIN	(		and	manie	1102	) 3.0		and	manie	TIN		3	and	manie	110	) 3.5
(	/	ana	name	HN	)	( /	ana	name	HA	) 3.5	( /	ana	name	HN	) (		and	name	нв^	) 3.5
(	7	and	name	HN	)	(8	and	name	HA	) 5.0	(7	and	name	HN	) (	8	and	name	HN	) 5.0
(	7	and	name	HN	)	( 9	and	name	HE*	) 5.0	(7	and	name	HN	) (1	115	and	name	HA	) 5.0
ì	7	and	namo	UN	ś	1116	and	namo	UD1	50	( 7	and	namo	UN		117	and	namo	UЛ	) 35
;	<i>.</i>	and	manie	1110	(		and	manie	TIDT	) 5.0		and	manie	1110	<u> </u>	· - /	anu	manie	1175	,
(	1	ana	name	HN	)	( 1 1 /	ana	name	HG2^	) 5.0	( 8	ana	name	HN	) (		and	name	HA	) 2.1
(	8	and	name	HN	)	(7	and	name	HB*	) 3.5	(8	and	name	HN	) (	8	and	name	HA	) 3.5
(	8	and	name	HN	)	( 8	and	name	HB*	) 3.5	( 8	and	name	HN	) (	8	and	name	HG1	) 5.0
ì	õ	and	namo	UN	ś	ìõ	and	nomo	102	50	i o	and	namo	LINT	ì	õ	and	n 0 m 0	UD 2	) 5 0
,	0	anu	name	HIN	(		anu	name	пGZ	, 5.0		anu	name	FIIN		2	anu	Itallie	пва	) 5.0
(	8	and	name	HN	)	( 9	and	name	HE*	) 5.0	( 8	and	name	HN	) (	9	and	name	HN	) 5.0
(	9	and	name	HN	)	( 8	and	name	HA	) 2.7	(9	and	name	HN	) (	8	and	name	HB*	) 3.5
(	9	and	name	HN	)	( 8	and	name	HG*	5.0	( 9	and	name	HN	) (	9	and	name	НА	) 3.5
ì	6	and	name	TINT	΄		and	nomo	110	, 5.0 . E 0		and	nomo	TINT	<hr/>	ó	and	nomo	1111	) 3.5 ) 3 E
(	9	and	name	HIN	(	( 9	ana	name	пві	, 5.0	( 9	ana	Itallie	HIN			ana	name	пви	) 3.5
(	9	and	name	HN	)	(9	and	name	HD*	) 3.5	(9	and	name	HN	) (	10	and	name	HA	) 5.0
(	9	and	name	HN	)	( 10	and	name	HG2*	) 5.0	(9	and	name	HN	) (1	113	and	name	HA	) 5.0
i	9	and	name	HN	)	113	and	name	HG2*	50	( 9	and	name	HN	i i	114	and	name	HB	50
;	0	and	manie	TIN	(	(114	and	manie		) 5.0		and	manie	TIN		114	and	manie	110.0+	) 5.0
(	9	and	name	HIN	)	$(\pm\pm4)$	and	name	HD1 ~	) 5.0	( 9	and	name	HIN	) (-	114	and	name	HGZ~	) 5.0
(	9	and	name	HN	)	(115	and	name	HA	) 5.0	(9	and	name	HN	) (1	115	and	name	HG*	) 5.0
( 1	LO	and	name	HN	)	( 9	and	name	HA	) 2.7	( 10	and	name	HN	) (	9	and	name	HB1	) 3.5
ì 1	0	and	name	HN	í	í g	and	name	HB2	35	( 10	and	name	HN	ì	9	and	name	нр*	) 35
1		and	manic	TINT	ζ.		and	manic	IIDZ	, 5.5		and	manic	TINT		10	and	manic	1110	) 3.5
( 1	LU	and	name	HIN	)	( 9	and	name	HIN	) 5.0	( <u>T</u> U	and	name	HIN	) (	ΤU	and	name	HA	) 3.5
( 1	L ()	and	name	HN	)	( 10	and	name	HB	) 5.0	( 10	and	name	HN	) (	10	and	name	HG2*	) 3.5
( 1	LO	and	name	HN	)	( 11	and	name	HN	) 5.0	( 10	and	name	HN	) (1	113	and	name	HA	) 5.0
<i>i</i> 1	0	and	name	HN	)	(114	and	name	HD1*	50	(11	and	name	HN	ì	10	and	name	НΔ	) 27
/ 1	11	and	nomo	TINT	``	( 1 0	and	nomo		) 3.0	( 11	and	nomo	TINT		10	and	nomo	110.0*	) <u>2</u> .,
		and	name	HIN	!		ana	name	пв	/ 2./		and	name	HIN		10	ana	Itallie	HGZ."	) 3.5
( 1	LL	and	name	HN	)	( 11	and	name	HA	) 3.5	( 11	and	name	HN	) (	$\perp \perp$	and	name	нвт	) 5.0
( 1	L1	and	name	HN	)	( 11	and	name	HB2	) 3.5	( 11	and	name	HN	) (	11	and	name	HG	) 5.0
( 1	11	and	name	HN	)	( 12	and	name	HA	) 5.0	(11	and	name	HN	) (*	111	and	name	HA1	) 5.0
i 1	11	and	name	LIN	í	(111	and	name	UN 0	5 0	( 11	and	namo	UN		110	and	name	UD*	) 5.0
	L _L	and	maille	111N	(	(112	and	maille	11AZ	, 5.0	( <u>1</u> 1	and	maille	TIN	( );	114	and	maille		, 5.0
$( \Box$	L	and	name	LIN	)	(113	and	name	на	, 3.5	ι ΤΤ	and	name	HIN	/ (-	⊥⊥4	and	name	нрт "	1 3.5
( 1	L2	and	name	HN	)	( 11	and	name	HA	) 2.7	( 12	and	name	HN	) (	11	and	name	HB1	) 3.5
( 1	L 2.	and	name	HN	)	( 11	and	name	HB2	) 5.0	(12	and	name	HN	) (	11	and	name	HG	) 5.0
ìi	12	and	namo	HN	í	( 11	and	name	HN	5 0	( 1 2	and	namo	HN	ì	10	and	name	НΣ	) 2 5
		and	maille	LIIN	(	( <u>1</u>	and	maille		, 5.0		and	maille	TIN	( )	10	and	maille	11A	, 3.3
( 1	LZ	and	name	HN	)	( 12	and	name	нвт	1 3.5	( 12	and	name	HN	) (	Τ2	and	name	HBZ	) 3.5
( 1	L2	and	name	HN	)	( 12	and	name	HG*	) 3.5	( 12	and	name	HN	) (	13	and	name	HB	) 5.0
( 1	12	and	name	HN	)	(13	and	name	HD1*	) 5.0	(12	and	name	HN	) i	12	and	name	HN	) 35
	12	and	name	LINI	í	1110	and	name	UC*	5 0	( 1 2	and	name	UN	, ,	11	and	name	цл	, 5.5
	- 2	anu	maille	1111	(	(140)	and	maille	110 "	, 5.0	( <u>1</u> 3	and	maille	1110		11	anu	maille	IIA A	, 5.0
( 1	L 3	and	name	HN	)	( 11	and	name	HBL	) 3.5	(13	and	name	HN	) (	11	and	name	HB2	) 5.0
( 1	L3	and	name	HN	)	( 11	and	name	HG	) 3.5	( 13	and	name	HN	) (	12	and	name	HA	) 3.5
( 1	13	and	name	HN	)	(12	and	name	HB2	) 5.0	( 1 3	and	name	HN	ì	12	and	name	HG*	) 5 0
1 1	12	and	nome	LINT	ί.	( 1 2	and	nome	U7	, 3.0 ) 2 E	( 1 D	and	nome	UN		1 2	and	nome	UD	,
, L	13	ana	nallie	LIIN	!	( 13	and	nalle	riA 	, 3.5	( <u>1</u> 3	and	nalle	LIIN .	(	13	and	nalle	пв	/ 2./
( 1	L3	and	name	HN	)	(13	and	name	HD1*	) 3.5	(13	and	name	HN	) (	13	and	name	HG11	) 5.0
( 1	L3	and	name	HN	)	( 13	and	name	HG12	) 3.5	(13	and	name	HN	) (	13	and	name	HG2*	) 5.0
(1	12	and	name	HN	)	(111	and	name	нд2	5 0	( 12	and	name	HN	ì	112	and	name	HN	) 5 0
, 1	- 7	222	nome	UP	{	( 1 7	22-7	nome	UD1	, 5.0	( 17 ( 17	222	nore	UP	· `-	17	22-7	nor	пр*	, J.U \ 5 F
ί	L /	ana	name	пь	!	( <u> </u>	ana	nane	пвт	, 5.0	( <u> </u>	and	nane	пь	(	±/	ana	naile	пU°	1 3.5
( 1	L7	and	name	HE	)	(17	and	name	HG*	) 3.5	(17	and	name	HE	) (1	151	and	name	HB2	) 5.0
( 1	L7	and	name	HE	)	(151	and	name	HD2*	) 5.0	(17	and	name	HE	) (1	158	and	name	HB1	) 5.0
$\dot{i}$	17	and	name	HE	ì	(158	and	name	нр*	5 0	( 17	and	name	HE	ì	159	and	name	нд	) 5 0
		anu	maille	1111	(	(10)	and	manie		,	( <u>+</u> /	and	maille	1111	/ \- /	1 -	anu	maille	1173	, 5.0
( 1	L'/	and	name	HN	)	( <u>1</u> 3	and	name	HG2*	) 5.0	( T.)	and	name	HN	) (	10	and	name	HA	) 5.0
( 1	L7	and	name	HN	)	( 16	and	name	HB1	) 5.0	( 17	and	name	HN	) (	16	and	name	HB2	) 3.5
( 1	17	and	name	HN	)	( 16	and	name	HD1	) 5.0	(17	and	name	HN	) (	16	and	name	HD2	) 35
<u>, -</u>		and	name	LINI	í	1 16	and	name	UC*	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	(17)	and	namo	UN	ì	17	and	name	цл 1	, 3.5 \ 2 E
( 1		auto	maille	TITN	/	( TO	and	name	11G	, 3.5	ι <u>τ</u>	and	maille	1111		1 /	anu	maille	11H	, 3.5
( 1				TINT	<u>۱</u>	/ 1 -			TTD					TINT						

(	17	and	namo	UN	) ( 1	7 and	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	uр*	) 5	: 0 (	17	and	namo	UNI )	(	17	and	namo
5	1/	and	manie	1111					/ 2		1/	and	manne	1110 )		1/	and	manie
(	Τ./	and	name	HN	) ( 1	8 and	i name	HA	) 5	o.0 (	Τ./	and	name	HN )	(	Τ8	and	name
(	17	and	name	HN	) ( 1	8 and	1 name	HD2*	) 5	50 (	17	and	name	HN )	(	19	and	name
)	10	and	manic	1110				1102			10	and	manic	111N /		~~	and	manic
(	17	and	name	HN	) ( 1	9 and	1 name	HN	) 5	.0 (	17	and	name	HN )	( )	20	and	name
(	18	and	name	HN	) ( 1	3 and	l name	HG2*	) 3	3.5 (	18	and	name	HN )	(	16	and	name
ì	10	and	n	TINT	, , , , ,	7	a nomo	TTA	, , E		10	and	nomo		ì	1 7	and	~~~~~
(	ΤO	and	name	HIN	) ( _	/ and	1 manie	пА	) 3	(	10	and	name	HIN )	(	1/	and	name
(	18	and	name	HN	) ( 1'	7 and	l name	HB2	) 5	5.0 (	18	and	name	HN )	(	17	and	name
ì	10	and	n 2 m 0	LINT	1 1	0 220	a nomo	UЛ	ົ່ວ	) E (	10	and	nomo	UNT )	i	10	and	n
	10	anu	Itallie	ПIN		o and		пА	, ,		10	anu	Itallie	пи )		10	anu	Itallie
(	18	and	name	HN	) (1)	8 and	l name	HB2	) 3	3.5 (	18	and	name	HN )	(	18	and	name
1	1.0	and	namo	LINI	) ( 1	2 and	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	UD2*	) 5	$: \cap i$	1 0	and	namo	UNI )	i	1 Q	and	namo
	10	anu	Itallie	ПIN		o and		прг	) 3	(	10	anu	Itallie	пи )		10	anu	Itallie
(	18	and	name	HN	) ( 1	9 and	1 name	HB1	) 5	5.0 (	18	and	name	HN )	(	19	and	name
1	1.0	and	namo	LINI	) ( 2	1 200	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	LINI	) 5	$: \cap i$	10	and	namo	UNI )	i	16	and	namo
	10	anu	Itallie	ПIN	/ ( 2			пім	) 3		19	anu	Itallie	пи )		10	anu	Itallie
(	19	and	name	HN	) ( 1	8 and	i name	HA	) 3	3.5 (	19	and	name	HN )	(	Τ8	and	name
(	19	and	name	HN	) ( 1	8 and	name	HB2	) 3	25 (	19	and	name	HN )	(	18	and	name
)	10	and	manic			- uni	, manue	1102	, J		10	ana	manic			10	ana	manic
(	19	and	name	HN	) ( 1	s and	1 name	HG	) 5	o.0 (	19	and	name	HN )	( )	Τ8	and	name
(	19	and	name	HN	) ( 1	9 and	name	HA	) 3	3.5 (	19	and	name	HN )	(	19	and	name
)	10					-	1	1100	, J		10		110			10		11041110
(	19	ana	name	HN	) ( 1)	9 and	i name	HBZ	) 3	3.5 (	19	ana	name	HN )	(	19	ana	name
(	19	and	name	HN	) (2	0 and	l name	HB*	) 5	5.0 (	19	and	name	HN )	(	2.0	and	name
ì	10	and	n	TINT	, i a	0	a nomo	1 1 1	, E		10	and	nomo		11	0 1	and	~~~~~
	19	and	name	HIN	) ( 2	z and	1 manie	пві	) 3	(	19	and	name	HIN )	( 1	04	and	name
(	19	and	name	HN	) (10	4 and	l name	HD2*	) 3	3.5 (	20	and	name	HN )	(	16	and	name
1	20	and	namo	LINI	) ( 1	7 and	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	UЛ	) 5	$: \cap i$	20	and	namo	UNI )	i	1 Q	and	namo
	20	and	manie	1111				114	/ 5		20	and	manne	1110 )		10	and	manie
(	20	and	name	HN	) ( 1	9 and	i name	HA	) 3	3.5 (	20	and	name	HN )	(	19	and	name
(	20	and	name	HN	) ( 1	9 and	name	HB2	) 3	85 (	20	and	name	HN )	(	19	and	name
)	20	and	manic	1111				1102	, ,		20	and	manic	1110 /		20	and	manne
(	20	ana	name	HN	) ( 2	u and	i name	HA	) 3	3.5 (	20	ana	name	HN )	(	20	ana	name
(	20	and	name	HN	) (2	) and	name	HB2	) 3	3.5 (	2.0	and	name	HN )	(	20	and	name
ì	20	and	nomo	TINT	$\langle \rangle$	0 0 00	l nomo	110*	, - , -		20	and	nomo	TINT )	ì	21	and	nomo
(	∠0	ana	naille	LIN	, ( 2	u allo	, maille	ng	, 3	,,,, (	∠0	and	naille	пи )	(	<u></u>	ana	naille
(	20	and	name	HN	) (2.	2 and	1 name	HN	) 5	5.0 (	20	and	name	HN )	(	24	and	name
ì	20	and	namo	HN	) (15	8 and	namo	нр*	) =	so à	21	and	namo	UN Y	i	17	and	name
Ì	20	anu	maille	1111	, (13)		, mane		, J		21 07	and	manie	1111 )	1	± /	and	maille
(	21	and	name	HN	) (1	8 and	1 name	HA	) 3	5.5 (	21	and	name	HN )	(	19	and	name
(	21	and	name	HN	) ( 1	9 and	] name	HB2	) 5	5.0 (	21	and	name	HN N	(	20	and	name
)	21	0	nen	TINT		0			( 7		01	0	manic	1111 /		20	0	ner
(	21	and	name	HN	) (2	u and	ı name	нвт	) 3	5.5 (	21	and	name	HN )	(	20	and	name
(	21	and	name	HN	) ( 2	) and	l name	HD*	) 5	5.0 (	21	and	name	HN )	(	20	and	name
ì	21	224	nomo	LINT		0	l nome	UN	່	2 5 (	21	220	nome	UN .	2	21	224	nome
(	21	anu	name	HIN	) ( 2	Jano	i name	HIN	) 3		21	and	name	HIN )	(	2 I	and	name
(	21	and	name	HN	) (2)	l and	l name	HB*	) 2	2.7 (	21	and	name	HN )	(	22	and	name
ì	21	and	namo	UN	\$ 1 2	2 200	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	LINI	ົ່າ	25 i	21	and	namo	UNI )	i	22	and	namo
	21	and	manie	1110		2 and		1111	, ,		21	and	manne	1110 )		23	and	manie
(	21	and	name	HN	) (2	5 and	1 name	HBT	) 5	o.0 (	21	and	name	HN )	( )	29	and	name
(	21	and	name	HN	) (2)	9 and	l name	HG	) 5	5.0 (	21	and	name	HN )	(1	51	and	name
ì	21	and	nomo	TINT	(15	0 0 00	l nomo	1101	, - , -		21	and	nomo	TINT )	(1	E 0	and	nomo
(	21	and	name	HIN	) (15	o and	i name	пы	) 3	(	21	anu	name	HIN )	( 1	20	and	Italle
(	22	and	name	HN	) ( 1	8 and	l name	HA	) 5	5.0 (	22	and	name	HN )	(	18	and	name
ì	22	and	name	HN	$\dot{i}$	9 and	name	ЧΔ	, 55	so i	22	and	name	HN )	i	21	and	name
ò	22	ana	manic	1110		, and			, ,		22	ana	manic	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		<u></u>	ana	manic
(	22	and	name	HN	) (2	1 and	1 name	HB*	) 3	3.5 (	22	and	name	HN )	( )	22	and	name
(	22	and	name	HN	) (2)	2 and	l name	HB1	) 3	3.5 (	22	and	name	HN )	(	22	and	name
ì	22	and	namo	LINI	1 1 2	2 2 2 2	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	uр*	, \ 5	so i	22	and	namo	UN )	i	22	and	namo
Ş	22	and	manie	1110		2 and			( ]		22	and	manne	111N )	( 1	25	and	manie
(	22	and	name	HN	) (2)	4 and	1 name	HN	) 5	o.0 (	22	and	name	HN )	( 1	47	and	name
(	23	and	name	HN	) ( 1	9 and	name	НА	) 3	3.5 (	23	and	name	HN )	(	21	and	name
)	20	ana	manic	1111				1174	/ J		20	ana	manic	1110 )		<u></u>	ana	manic
(	23	ana	name	HN	) ( 2.	z and	i name	HA	) 3	3.5 (	23	ana	name	HN )	(	22	ana	name
(	23	and	name	HN	) (2)	2 and	l name	HB2	) 3	3.5 (	23	and	name	HN )	(	2.2	and	name
ì	22	and	nomo	LINT	i i o	2 220	1 nomo	LINT	í a		22	and	nomo		ì	າວ	and	nomo
	23	anu	Itallie	пім	) ( 2	2 and		піх	, ,		23	anu	Itallie	пи )		23	anu	name
(	23	and	name	HN	) (2	3 and	1 name	HB	) 2	2.7 (	23	and	name	HN )	(	23	and	name
(	23	and	name	HN	) (2)	3 and	1 name	HG2*	) 5	50 (	23	and	name	HN )	i	24	and	name
)	20	and	manic				, manue	1102	, J		23	ana	manic			~ ~	ana	manic
(	23	and	name	HN	) (2	b and	1 name	HB*	) 5	.0 (	24	and	name	HN )	( )	20	and	name
(	2.4	and	name	HN	) (2	0 and	l name	HB*	) 5	5.0 (	24	and	name	HN )	(	23	and	name
ì	24	and	nomo	LINT	$\hat{\boldsymbol{\lambda}}$	2 220	l nomo	UD	ί -		24	and	nomo	LINT )	ì	22	and	nomo
	24	anu	Itallie	ПIN	) ( 2	s and		пь	/ 4		24	anu	Itallie	пiv )		23	anu	Itallie
(	24	and	name	HN	) (2)	3 and	l name	HG2*	) 3	3.5 (	24	and	name	HN )	(	23	and	name
ì	24	and	namo	UN	$\dot{i}$	1 and	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	UЛ	ົ່າ	25 i	24	and	namo	UNI )	i	24	and	namo
	27	anu	manie	1110		- and		114	, ,		27	and	manne	1110 )		27	and	manie
(	24	and	name	HN	) (2)	4 and	i name	HB2	) 3	3.5 (	24	and	name	HN )	( )	24	and	name
(	25	and	name	HN	) (2	1 and	name	НА	) 5	5.0 (	25	and	name	HN )	(	23	and	name
ì	25			TINT		4	1	117	, - , -		25			TTNT )	,	 - 4		
(	20	and	nalle		$1 \leq 2$	ano	, mane	пА	, 5	(	20	and	nalle	ни )	(	24	and	naille
(	25	and	name	HN	) (2)	4 and	1 name	HB2	) 5	o.u (	25	and	name	HN )	(	24	and	name
Ì	25	and	name	HN	) ( 2	4 an/	] name	HN	) 2	3.5 /	25	and	name	HN V	í	25	and	name
ò	25	ana	manic	1110				1110	, J		25	ana	manic	1110 )		25	ana	manic
(	25	and	name	HN	) (2	o and	ı name	нвт	) 3	5.5 (	25	and	name	HN )	(	25	and	name
(	25	and	name	HN	) (2	6 and	name	HB*	) 3	3.5 (	26	and	name	HN )	(	25	and	name
ì	26	224	nomo	LINT .		5	l nome	<u>цу</u>	, J	2 5 4	26	220	nome	UN .	2	ວິເ	224	n-m-
ļ	20	ana	maille	1114	<u> </u>	- aii0	, maille	1114	, 3		20	and	maille	1114		20	anu	maille
(	26	and	name	HN	) (2	/ and	1 name	HN	) 3	5.5 (	27	and	name	HN )	(	25	and	name
í	27	and	name	HN	) ( ?	6 and	] name	НА	) 5	5.0 $i$	27	and	name	HN Y	(	26	and	name
)	2 /	0	manie	TINT		7		117	( <sup>–</sup>		27		nanne	TINT )			0	non
(	27	and	name	HIN	) (2	/ and	1 name	нА	, 3	).o (	27	and	name	ни )	(	21	and	name
(	27	and	name	HN	) ( 2	7 and	l name	HB2	) 3	3.5 (	27	and	name	HN )	(	28	and	name
ì	27	and	namo	UN	$\dot{i}$	8	1 nome	1001	, 5		27	and	name	UN .	ì	ວວັ	and	namo
(	21	anu	maille	LTIN	, ( 2	o and	, manne		, כ	(	4/	and	manne	ли )	(	20	and	maille
(	27	and	name	HN	) (4	l and	i name	HB1	) 5	5.0 (	28	and	name	HD21 )	(	28	and	name
ì	28	and	name	HD21	) $(2)$	8 and	] name	HB2	) 2	3.5 <i>ì</i>	28	and	name	HD22	i	25	and	name
)	20		manie	11221	, , 2			1122	, , , ,		20	Jung	manne	, 22 din			und -	manne
(	28	and	name	HD22	) (2	s and	1 name	НA	) 5	o.∪ (	28	and	name	HD22 )	( )	28	and	name
(	2.8	and	name	HD22	) (2	8 and	l name	HB2	) 5	5.0 (	2.8	and	name	HD2.2	(	28	and	name
)	20			LINT		6	l nome	U7	, 7	: 0 /	20	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	norre	UNT \	2	26		
(	28	ana	nane	пи	, ( 2	o and	, name	пА	, 5	(	28	and	name	ли )	(	20	ana	name
(	28	and	name	HN	) (2)	7 and	i name	HA	) 3	3.5 (	28	and	name	HN )	(	27	and	name
ì	28	and	namo	HN	) $i$ $2$	7 an/	h name	HB2	) 7	25 /	28	and	name	HN Y	i	28	and	name
	20	ana	maille	1114	, ( 2	, aii(	, maille		, 3		20	and	maille	1114		20	ana	maille
(	28	and	name	HN	) (2	s and	1 name	HBl	) 3	5.5 (	28	and	name	HN )	(	28	and	name
Ì	2.8	and	name	HN	) ( 2	9 and	name	HB1	) 5	5.0 Ì	28	and	name	HN N	í	29	and	name
)	20		manic	TINT	, <u>,</u> 2	0	1		, -		20			/	}		~ ~ ~ 7	
(	28	and	name	HN	) (3	u and	1 name	HIN	, 5	).U (	29	and	name	HN )	(	21	and	name
(	29	and	name	HN	) (2	8 and	l name	HB1	) 5	5.0 (	29	and	name	HN )	(	28	and	name
ì	20	and	name	HN	$\dot{i}$	8 and	1 namo	HN	5 2	, , ,	20	and	namo	HN Y	ì	20	and	name
ļ	27	and	maille	1114		o aii(	1 maille	1111	<u>,</u>		27	and	maille	1111 )	, i	ムブ	ang	maille
(	29	and	name	HN	) (3	u and	1 name	HN	) 3	5.5 (	29	and	name	HN )	(	J٦	and	name
(	30	and	name	HN	) ( 2	6 and	l name	HA	) २	3.5 <sup>(</sup>	30	and	name	HN )	(	26	and	name
)	20	22-1	nome	LINT	, , 4	7	l nome	117	í r	,	20	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	nor		)	20	22.10	nome
(	30	ana	name	TIN	, (2	/ and	, name	нА	, 5	(	30	and	name	ни )	(	20	and	name
(	30	and	name	HN	) (2	9 and	l name	HA	) 3	3.5 (	30	and	name	HN )	(	29	and	name
ì	20	and	namo	HN	$)$ $i$ $\bar{2}$	9 an	name	HB2	່ວ	25 /	20	and	name	HN Y	ì	20	and	name
ļ	20	ana	maille	1114		/ all(	, maille		, 3	(	50	and	maille	1114		ムブ つ C	anu	maille
(	30	and	name	HN	) (3	U and	i name	ĤΑ	) 3	3.5 (	30	and	name	HN )	(	30	and	name
i	30	and	name	HN	) ( 2	) and	name	HG1 *	) 2	2.7 (	30	and	name	HN Y	(	30	and	name
	50	unu	manie	TINT		1		1101	ί <sup>Δ</sup>		20		nanne	TINT )	>	20 21	0	non
	~ ~	7		HN	1 ( 3)	1 and	name	HDI	) 3	5.5 (	30	and	name	HN )	(	J١	and	name
(	30	and	name	1111	, ( )													
(	30 32	and and	name	HN	) (3	0 and	l name	HA	) 5	5.0 (	32	and	name	HN )	(	31	and	name

( 32 and name HN	) ( 31 and name HG*	) 5.0 (	( 32	and n	ame HN	) (	32	and	name HA	) 3.5
( 22 and name UN	(22 and name IID)			and n	amo IIN		22	and	nomo III	
( 32 and name HN	) ( 32 and name HBI	) 5.0 (	( 32	and n	lane HN	) (	32	and	паше н	32 ) 5.0
( 32 and name HN	) ( 32 and name HG*	) 5.0 (	(32	and n	ame HN	) (	33	and	name HE	3) 5.0
(32 and name UN	(33  and name  HG2*)	50	1 22	and n	amo UN		22	and	name UN	л ) <u>2</u> Б
		) 5.0 (		and n		<u> </u>	33	anu	паше п	1 ) 5.5
( 32 and name HN	) ( 34 and name HN	) 5.0 (	( 33	and n	lame HN	) (	29	and	name HI	)2*) 5.0
( 33 and name HN	) ( 30 and name HA	) 35 (	( 33	and n	ame HN	) (	30	and	name HO	12*) 50
				and n		(	20	ana	manic me	
( 33 and name HN	) ( 32 and name HA	) 3.5 (	( 33	and n	lame HN	) (	32	and	name HE	31 ) 5.0
( 33 and name HN	) ( 32 and name HB2	) 50 (	( 33	and n	ame HN	) (	22	and	name HZ	) 35
		) 5.0 (		and n		( )		ana	manic m	1 / 5.5
( 33 and name HN	) ( 33 and name HB	) 3.5 (	( 33	and n	lame HN	) (	33	and	name HI	ル*) 5.0
( 33 and name UN	) (33 and name UC11	) 3 5 /	1 22	and n	amo UN	<b>`</b>	22	and	name UC	12 3 3 5
		, 5.5		and n				ana	manic ne	112 / 5.5
( 33 and name HN	) ( 33 and name HG2*	) 5.0 (	( 33	and n	ame HN	) (	34	and	name HA	1) 5.0
( 33 and name HN	) ( 34 and name HB*	) 50 (	( 22	and n	ame HN	) (	35	and	name HI	12 ) 5 0
		,		and n			55	and	manie m	2 ) 5.0
( 34 and name HN	) ( 33 and name HN	) 3.5 (	(34	and n	ame HN	) (	34	and	name HE	3* ) 3.5
( 36 and name HE21	) ( 34 and name HA	) 50 (	36	and n	ame HE21	) (	34	and	name HF	4* ) 50
		, 5.0 (		, and 11		(		and	manic m	, , 5.0
( 36 and name HE21	) ( 36 and name HB*	) 5.0 (	( 36	and n	ame HE21	) (	36	and	name HO	JL) 5.0
( 36 and name HE21	) ( 36 and name HG2	) 50 (	36	and n	ame HE21		146	and	name HI	)2*) 50
		, 5.0		and n				ana	manic m	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
( 36 and name HE22	) ( 34 and name HA	) 5.0 (	( 36	and n	ame HE22	) (	34	and	name HE	3* ) 5.0
( 36 and name HE22	) ( 36 and name HG1	) 50 (	36	and n	ame HE22	) (	36	and	name HO	12 ) 5 0
		, 5.0 (				(		and	1101110 110	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
( 36 and name HEZZ	) (146 and name HD2*	) 5.0 (	( 36	and n	lame HN	) (	34	ana	name HA	1) 3.5
( 36 and name HN	) ( 34 and name HB*	) 5.0 (	( 36	and n	ame HN	) (	35	and	name HA	、 ) 3.5
( 26 and name IIN	) ( 2E and name IID1		20	and n	omo IIN		25	and	nome III	12 1 E 0
( 36 and name HN	) ( 35 and name HDI	) 5.0 (	50	and n	lalle fin	, i	35	ana	паше н	12 ) 5.0
( 36 and name HN	) ( 35 and name HG*	) 3.5 (	(36	and n	ame HN	) (	36	and	name HA	<u>د</u> ) 3.5
26 and name UN	) (26 and name UP1	) 2 E /	1 26	and n	amo UN		26	and	nomo UI	$32$ $\hat{\lambda}$ E 0
	( So and name HBI	) 5.5	50	and n	аше пи	/ '	30	anu	паше п	32 ) 5.0
( 36 and name HN	) ( 36 and name HG1	) 5.0 (	(36	and n	ame HN	) (	36	and	name HO	42) 5.0
26 and name UN	(27  and   name  U)		1 26	and n	amo UN		27	and	nomo UI	) * ) E 0
		, 5.0 (	, 50			( )		and	indine fil	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
( 37 and name HN	) ( 30 and name HG2*	) 5.0 (	( 37	and n	ame HN	) (	34	and	name HE	3°) 3.5
( 37 and name HN	) ( 35 and name H∆	) 5 0 /	( 27	and n	ame HN	) /	36	and	name <sup>U7</sup>	<u>, ) 5 0</u>
( 27 and mane m		, 5.5 (					20	7		. , 5.0
( 37 and name HN	) ( 36 and name HBl	) 5.0 (	( 37	and n	ame HN	) (	36	and	name HE	i∠ ) 5.0
( 37 and name HN	) ( 36 and name HG2	) 5.0 (	( 37	and n	ame HN	) (	36	and	name HN	1) 3.5
( 27 and 111		) 2.5 (	, ,,	0	omo 1137		20	7		, J.J
( 3/ and name HN	, ( 3/ and name HA	1 3.5 (	31	and n	alle HN	, (	51	and	name HE	»    )   2.7
( 37 and name HN	) ( 38 and name HN	) 3.5 (	( 38	and n	ame HN	) (	30	and	name HG	2*) 3.5
( 20 and rame INT	) ( 27 and 117	) 2 E	, 20	0.00	amo ITAT		20	0 7 7	nome 117	, .*
( so and name HN	, ( 3/ and name HA	1 3.5 (	38	ana n	ante HN	, (	31	and	name H	, ) Z.1
( 38 and name HN	) ( 38 and name HB	) 3.5 (	( 3.9	and n	ame HN	) (	38	and	name HA	<ul> <li>) 3.5</li> </ul>
(30 and name INT	) (38 and name III		20	and			20	and	namo IT	, -•⊃ 1 * \ ⊑ ∩
( 39 and name HN	) (38 and name HB	) 5.0 (	( 39	and n	lane HN	) (	38	ana	паше н	)) 5.0
( 39 and name HN	) ( 38 and name HG2*	) 3.5 (	( 39	and n	ame HN	) (	39	and	name HA	s) 3.5
( 20 and name IIN	) ( 20 and name UD2	) 2.5 (	20		ama TINT		20		in a man a TIT	1+ ) E O
( 39 and name HN	) ( 39 and name HBZ	) 3.5 (	( 39	and n	lane HN	) (	39	ana	паше н	. ) 5.0
( 39 and name HN	) ( 40 and name HN	) 3.5 (	( 39	and n	ame HN	) (	58	and	name HA	s) 3.5
( 20 and name IIN	) ( EQ and name IID1		10	and n	omo IIN		20	and	nomo II7	, , E O
( 39 and name HN	) ( So and name HBI	) 5.0 (	( 40	and n	lalle fin	, ,	0 2 0	ana	name HA	1 ) 5.0
( 40 and name HN	) ( 38 and name HG11	) 5.0 (	( 40	and n	ame HN	) (	38	and	name HO	12*) 3.5
( 10 and name HN	(20 and name HA	) 2 5 /	10	and n	amo UN		20	and	nomo UI	21 Ú E O
( 40 and name mi	) ( 39 and name ha	) 5.5 (	40	and n	аше пи	/ '	59	anu	паше п	J J J.U
( 40 and name HN	) ( 39 and name HB2	) 3.5 (	( 40	and n	ame HN	) (	39	and	name HO	;* ) 5.0
(40 and name UN	$(40 \text{ and name } \Psi)$	1 3 5 /	i 40	and n	amo UN		40	and	namo UI	21 1 2 5
		, 5.5 (	( 10	and n		<u> </u>	10	anu	name m	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
( 40 and name HN	) ( 40 and name HB2	) 5.0 (	( 40	and n	lame HN	) (	56	and	name HA	s.0 د ا
(40 and name UN	(57  and name  HR)	1 3 5 /	i 40	and n	amo UN		57	and	name UC	12* Ì 5 0
		, 5.5 (	10	and n				ana	manic ne	12 / 5.0
( 40 and name HN	) ( 58 and name HA	) 5.0 (	( 41	and n	lame HN	) (	38	and	name HO	32*) 5.0
( 41 and name HN	) ( 40 and name $HA$	) 27 (	( 41	and n	ame HN	) (	40	and	name HF	<b>∢</b> * ) 3 5
			( <u> </u>			(	41			, , <b>5.5</b>
( 41 and name HN	) ( 40 and name HN	) 5.0 (	( 41	and n	lame HN	) (	( 4⊥	and	name HA	1) 3.5
( 41 and name HN	) ( 41 and name HB1	) 3.5 (	( 41	and n	ame HN	) (	41	and	name HE	32 ) 5.0
( 11 and name IN	) ( 12 and name IN						11			
( 41 and name HN	) ( 42 and name HN	) 5.0 (	(42	and n	lame HN	) (	41	ana	name HA	s) 2./
( 42 and name HN	) ( 41 and name HB1	) 5.0 (	( 42	and n	ame HN	) (	41	and	name HE	32) 5.0
( 10 and name IIN	) ( 10 and name II)	) 2 F	( <u>-</u>		ama TINT		40		in a magnitude a state	1 ) 2 F
( 42 and name fin	) ( 42 and name ha	) 3.5 (	( 42	and n	lalle fin	, ,	42	ana	паше н	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
( 42 and name HN	) ( 42 and name HB2	) 3.5 (	( 42	and n	ame HN	) (	43	and	name HO	1*) 5.0
(12 and name HN	) (Ed and name HA	) 50	i no	and n	amo UN		55	and	nomo UI	) 1 ) 2 E
( 42 and name mi	) ( 54 and name ha	) 5.0 (	42	and n	аше пи	/ '	55	anu	паше п	J J 3.5
( 42 and name HN	) ( 55 and name HN	) 3.5 (	( 42	and n	ame HN	) (	56	and	name HA	s.0 ،
(42 and name UN	) (56 and name UC11	50	i 12	and n	amo UN		56	and	namo UN	J Í S O
		) 5.0 (	( <u>1</u> 2			<u> </u>	50	anu	11aiiie 111	, , , ,
( 42 and name HN	) ( 57 and name HG2*	) 5.0 (	(42	and n	lame HN	) (	57	and	name HN	1) 5.0
( 43 and name HN	) ( 41 and name HB2	) 5.0 (	( 43	and n	ame HN	) (	42	and	name HA	) 2.7
	( 12 and name HD1		4 1 2			(	10			
( 43 and name HN	/ 42 and name HBI	, 5.0 (	43	ana n	alle HN	, (	42	and	name H	1 5.0
( 43 and name HN	) ( 42 and name HN	) 5.0 (	( 43	and n	ame HN	) (	43	and	name HA	) 3.5
(43 and name IN	(43  and name III)		1 1 2	and			10	and	namo IT	ין און און און און און און און און און או
(43 and name HN	) (43 and name HB	) 3.5 (	43	and n	lane HN	) (	43	and	паше н	)) 3.5
( 43 and name HN	) ( 43 and name HG1*	) 3.5 (	(43	and n	ame HN	) (	43	and	name HO	32*) 5.0
(43 and name HN	) (54 and name $H^{\Lambda}$	) 50	( ΔΛ	and n	ame HN	)	42	and	name U7	. ) 27
		, (				( )		unu -	name HF	. / 2./
( 44 and name HN	) ( 43 and name HD1*	) 5.0 (	(44	and n	ame HN	) (	43	and	name HO	32*) 2.7
( 44 and name HN	) ( $43$ and name HN	) 5.0	( 44	and n	ame HN	) /	44	and	name HZ	<u>،</u> ) २ ५
( 11 and name The		, 2.0 (	, ,,	0	omo 1137			a		· · · · · ·
( 44 and name HN	, 44 and name HB*	) 2.1 (	44	and n	alle HN	, (	45	and	name HA	. ) 5.0
( 44 and name HN	) ( 45 and name HB2	) 5.0 (	( 44	and n	ame HN	) (	45	and	name HN	J) 2.7
( 11 and name INT	) ( E2 and nome 1122*		, ,,	222			5	22.2	nomo !!!	, <u>.</u> ,
1 44 and name HN	, j j z and name HG2*	, 5.0 (	44	and n	alle HN	, I	53	ana	name H	, , 3.5
( 44 and name HN	) ( 54 and name HA	) 3.5 (	(44	and n	ame HN	) (	54	and	name HE	31 ) 5.0
( 44 and name UN	(54  and name  UC*)	50	1 11	and ~	amo UN		55	and	namo ITA	τ ) Ε O
, TT and Hame HN	, ST ALLA LIAILE HG*	, (	44	anu n		<u> </u>	55	and	name H	, , 5.0
( 45 and name HE1	) ( 44 and name HB*	) 5.0 (	(45	and n	ame HE1	) (	45	and	name HE	32) 5.0
( 45 and name up1	) (53 and name $UD$		( <u></u>	and n	ame HF1		52	and	name UT	
		, (				( )		and 7	name ni	)1*) ⊑∩
( 45 and name HN	(12 - 12)		(45	and n	ame HN	, (	44	and	0.0mo U(	)1*) 5.0
( $45$ and name HN	) (43 and name HA	) 5.0 (	( 45	and n		· ·	( <del>1</del> 5	· · · · ·	паше по	01*) 5.0 \$2*) 2.7
, is and name in	) (43 and name HA ) (44 and name HA	) 5.0 (		11 10110	ame HN	Ś	44	and	name u	)1*) 5.0 }2*) 2.7
	) (43 and name HA ) (44 and name HA	) 5.0 (			ame HN			and	name HE	$(1^*)$ 5.0 $(2^*)$ 2.7 $(3^*)$ 3.5
( 45 and name HN	) ( 43 and name HA ) ( 44 and name HA ) ( 45 and name HA	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 (	( 45	and n	ame HN ame HN		44 45	and and	name HE name HE	01*) 5.0 32*) 2.7 3*) 3.5 31) 5.0
( 45 and name HN ( 45 and name HN	) (43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB2	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 (	(45 (45	and n and n	ame HN ame HN ame HN	) (	44 45 45	and and and	name HE name HE name HI	>1*       5.0         \$2*       2.7         \$*       3.5         \$1       5.0         >1       5.0
(45 and name HN (45 and name HN (45 and name UN	(43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB2 ) (45 and name HB2	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 (	(45 (45	and n and n	ame HN ame HN ame HN		44 45 45	and and and	name HE name HE name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 45 and name HN ( 45 and name HN	<ul> <li>( 43 and name HA</li> <li>( 44 and name HA</li> <li>( 45 and name HA</li> <li>( 45 and name HB2</li> <li>( 46 and name HN</li> </ul>	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 5.0 (	(45 (45 (45	and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52	and and and and	name HE name HE name HI name HI	01*       )       5.0         \$2*       )       2.7         \$*       )       3.5         \$1       )       5.0         >1       )       5.0         \$2*       )       5.0         \$2       )       5.0         \$2       )       5.0         \$2*       )       5.0
( 45 and name HN ( 45 and name HN ( 45 and name HN ( 45 and name HN	<ul> <li>( 43 and name HA</li> <li>( 44 and name HA</li> <li>( 45 and name HA</li> <li>( 45 and name HB2</li> <li>( 46 and name HN</li> <li>( 53 and name HA</li> </ul>	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 5.0 ( ) 5.0 (	(45 (45 (45 (45	and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN	) ()	44 45 45 52 53	and and and and and	name HE name HE name HE name HE	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
(45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA</li> <li>(44 and name HA</li> <li>(45 and name HA</li> <li>(45 and name HB2</li> <li>(46 and name HN</li> <li>(53 and name HA</li> </ul>	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 5.0 ( ) 5.0 (	(45 (45 (45 (45	and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52 53	and and and and and and	name HE name HE name HE name HE	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
(45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA</li> <li>(44 and name HA</li> <li>(45 and name HA</li> <li>(45 and name HB2</li> <li>(46 and name HN</li> <li>(53 and name HA</li> <li>(54 and name HA</li> </ul>	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 5.0 ( ) 5.0 ( ) 5.0 (	( 45 ( 45 ( 45 ( 45 ( 45	and n and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52 53 54	and and and and and and and	name HE name HE name HE name HE name HE	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 46 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA</li> <li>(44 and name HA</li> <li>(45 and name HA</li> <li>(45 and name HB2</li> <li>(46 and name HN</li> <li>(53 and name HA</li> <li>(54 and name HA</li> <li>(43 and name HG2*</li> </ul>	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 5.0 ( ) 5.0 ( ) 5.0 ( ) 5.0 (	( 45 ( 45 ( 45 ( 45 ( 45 ( 46	and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52 53 54 45	and and and and and and and and	name HE name HE name HE name HE name HE name HE	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
(45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN (45 and name HN (46 and name HN (46 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA)</li> <li>(44 and name HA)</li> <li>(45 and name HA)</li> <li>(45 and name HB2)</li> <li>(46 and name HN)</li> <li>(53 and name HA)</li> <li>(54 and name HA)</li> <li>(43 and name HG2*)</li> </ul>	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	(45) (45) (45) (45) (45) (46)	and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52 53 54 45 45	and and and and and and and and and	name HE name HE name HE name HE name HE name HE	D1*       5.0         \$2*       2.7         \$3*       3.5         \$1       5.0         >1       5.0         >2       5.0         >2       5.0         >2       5.0         >2       5.0         >       3.5         >       5.0
( 45 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA</li> <li>(44 and name HA</li> <li>(45 and name HA</li> <li>(45 and name HB2</li> <li>(46 and name HN</li> <li>(53 and name HA</li> <li>(54 and name HA</li> <li>(43 and name HG2*</li> <li>(45 and name HB1</li> </ul>	) 5.0 ( ) 3.5 ( ) 3.5 ( ) 5.0 (	(45) (45) (45) (45) (45) (46) (46)	and n and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52 53 45 45 45	and and and and and and and and and	name HE name HE name HE name HC name HC name HC name HZ name HZ	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA</li> <li>(44 and name HA</li> <li>(45 and name HA</li> <li>(45 and name HB2</li> <li>(46 and name HN</li> <li>(53 and name HA</li> <li>(54 and name HA</li> <li>(43 and name HB1</li> <li>(46 and name HB1</li> <li>(46 and name HA1</li> </ul>	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	( 45 ( 45 ( 45 ( 45 ( 45 ( 46 ( 46	and n and n and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52 53 45 45 45 45 45 45 45	and and and and and and and and and and	name HE name HE name HE name HE name HE name HE name HE name HE	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA)</li> <li>(44 and name HA)</li> <li>(45 and name HA)</li> <li>(45 and name HB2)</li> <li>(46 and name HN)</li> <li>(53 and name HA)</li> <li>(54 and name HA)</li> <li>(43 and name HG2*)</li> <li>(45 and name HB1)</li> <li>(46 and name HA1)</li> <li>(52 and name HA1)</li> </ul>	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	( 45 ( 45 ( 45 ( 45 ( 45 ( 46 ( 46 ( 46	and n and n and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN ame HN		44 45 45 52 53 45 45 45 45 45 52	and and and and and and and and and and	name He name HE name HI name HO name HO name HO name HI name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 45 and name HN ( 45 and name HN ( 45 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA)</li> <li>(44 and name HA)</li> <li>(45 and name HA)</li> <li>(45 and name HB2)</li> <li>(46 and name HB2)</li> <li>(53 and name HA)</li> <li>(54 and name HA)</li> <li>(45 and name HA2*)</li> <li>(45 and name HB1)</li> <li>(46 and name HA1)</li> <li>(52 and name HA1)</li> <li>(52 and name HA1)</li> </ul>	$\begin{array}{c} 5.0 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\$	(45) (45) (45) (45) (45) (46) (46) (46) (46)	and n and n and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN aame HN aame HN aame HN aame HN aame HN aame HN aame HN		44 45 45 52 53 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45	and and and and and and and and and and	name HE name HE name HI name HI name HI name HI name HI name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
(45 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (47 and name HN         (47 and name HN	<ul> <li>(43 and name HA</li> <li>(44 and name HA</li> <li>(45 and name HA</li> <li>(45 and name HB2</li> <li>(46 and name HN</li> <li>(53 and name HA</li> <li>(54 and name HA</li> <li>(43 and name HG2*</li> <li>(45 and name HB1</li> <li>(46 and name HB1</li> <li>(46 and name HA1</li> <li>(52 and name HA</li> <li>(43 and name HA1</li> <li>(43 and name HA1</li> </ul>	$\begin{array}{c} 5.0 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\$	(45) (45) (45) (45) (46) (46) (46) (47)	and n and n and n and n and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN		44 45 45 52 53 54 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45	and and and and and and and and and and	name HE name HE name HI name HE name HE name HE name HI name HI name HI name HO	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 47 and name HN ( 47 and name HN	) (43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HB ) (53 and name HA ) (54 and name HA ) (54 and name HB ) (46 and name HB ) (46 and name HA ) (52 and name HA ) (52 and name HA ) (46 and name HA	$\begin{array}{c} 5.0 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ $	(45) (45) (45) (45) (46) (46) (46) (47) (47)	and n and n and n and n and n and n and n and n and n and n	ame HN ame HN		$44 \\ 45 \\ 45 \\ 52 \\ 53 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ 46 \\ 46 \\ 43 \\ 46 \\ 46 \\ 46 \\ 46 \\ 46$	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 47 and name HN ( 47 and name HN	) (43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB2 ) (46 and name HN ) (53 and name HA ) (54 and name HA ) (45 and name HB1 ) (46 and name HA1 ) (52 and name HA1 ) (52 and name HA1 ) (46 and name HD1* ) (46 and name HA1	$\begin{array}{c} 5.0 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\$	(45) (46) (46) (47)	and n and n	ame HN ame HN		$44 \\ 45 \\ 52 \\ 53 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ 45$	and and and and and and and and and and	name HE name HE name HI name HI name HO name HO name HO name HO name HO name HO	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
(45 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (47 and name HN	) (43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HB ) (53 and name HA ) (54 and name HA ) (54 and name HB ) (46 and name HB ) (46 and name HA ) (52 and name HA ) (46 and name HA ) (46 and name HA ) (46 and name HN	$\begin{array}{c} 5.0 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 3.5 \\ 0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\$	(45) (45) (45) (45) (45) (45) (45) (46) (46) (47) (47) (47)	and n and n	ame HN ame HN		43 44 45 52 53 45 45 45 45 45 45 45 45	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN         ( 46 and name HN         ( 47 and name HN	) (43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HB ) (53 and name HA ) (54 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HA ) (52 and name HA ) (43 and name HD ) (46 and name HD ) (47 and name HN ) (47 and name HB	$\begin{array}{c} ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 2.7 &$	( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 46) ( 46) ( 46) ( 47	and n and n	ame HN ame HN		$44 \\ 45 \\ 45 \\ 52 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ 45 \\ $	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
(45 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (46 and name HN         (47 and name HN         (47 and name HN         (47 and name HN	) (43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HB ) (53 and name HA ) (54 and name HA ) (54 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HA ) (47 and name HB	$\begin{array}{c} 5.0 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 2.7 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 2.7 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\$	( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 46) ( 46) ( 46) ( 47	and n and n	ame HN ame HN		445 452 5345 4523 45545 45523 45525 45525 455555 45555555555	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN         ( 46 and name HN         ( 47 and name HN	(43 and name HA (44 and name HA (45 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HB ) (53 and name HA ) (54 and name HA ) (54 and name HA ) (45 and name HB ) (46 and name HA ) (52 and name HA ) (43 and name HA ) (43 and name HD ) (46 and name HN ) (47 and name HN ) (48 and name HA	$\begin{array}{c} ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 &$	( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 46) ( 46) ( 46) ( 47	and n and n	ame HN ame HN		44 45 45 52 53 45 45 45 45 45 45 45 45	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$\left(\begin{array}{c} 45 \\ 45 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 45 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 45 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 45 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 46 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 46 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 46 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ \end{array}\right) \\ \end{array}\right)$	) (43 and name HA ) (44 and name HA ) (45 and name HA ) (45 and name HB ) (45 and name HB ) (53 and name HB ) (54 and name HA ) (54 and name HA ) (54 and name HB ) (46 and name HA ) (46 and name HA ) (46 and name HA ) (46 and name HA ) (46 and name HN ) (47 and name HB ) (48 and name HA ) (49 and name HN	$\begin{array}{c} ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 &$	( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 45) ( 46) ( 46) ( 47	and n and n	ame HN ame HN		445 445 523 452 452 452 452 452 462 467 477 822	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
( 45 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 46 and name HN ( 47 and name HN	(43 and name HA (44 and name HA) (45 and name HA) (45 and name HA) (45 and name HB2) (46 and name HB2) (53 and name HA) (54 and name HA) (54 and name HB1) (46 and name HB1) (46 and name HA1) (46 and name HA1) (47 and name HB1) (48 and name HA2) (49 and name HN2) (52 and name HN2) (52 and name HN2)	$\begin{array}{c} ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 5.0 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 3.5 & ( \\ ) & 5.0 &$	( 455) ( 455) ( 455) ( 455) ( 455) ( 455) ( 456) ( 456) ( 477)	and n and n	ame HN ame HN		445 445 534 452 452 456 467 482 477 482 553 456 477 482 553 456 457 456 457 456 457 456 457 456 457 456 457 456 457 557 457 457 457 457 557 457 457 557 457 557 457 557 457 557 457 557 457 557 457 557 457 557 557 557 577	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$ \left(\begin{array}{c} 45 \\ 45 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 45 \\ 45 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 45 \\ 45 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 46 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 46 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 46 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 46 \\ and \\ name \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ HN \\ \left(\begin{array}{c} 47 \\ and \\ name \\ HN \\ HN \\ (\begin{array}{c} 47 \\ and \\ HN \\ HN \\ HN \\ HN \\ (\begin{array}{c} 47 \\ $	(43 and name HA (44 and name HA) (45 and name HA) (45 and name HA) (45 and name HB2) (46 and name HB2) (53 and name HA) (54 and name HA) (54 and name HB1) (46 and name HB1) (46 and name HA1) (46 and name HD1* (46 and name HD1* (46 and name HN1) (47 and name HN1) (49 and name HN2) (49 and name HN2) (49 and name HN2) (49 and name HN2)	$\begin{array}{c} 5.0 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 3.5 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 5.0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\$	( ( 455) + 455) + 455	and n and n an an an an an an an an an an an an an	ame HN ame HN		445 445 523 452 452 467 477 482 522	and and and and and and and and and and	name HI name HI	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

(	48	and	name	HN	) (	43	and	name	HG2*	) 3	.5 (	48	and	name	HN )	) (	46	and	name	HA1	) 3.5
ì	48	and	name	HN	í ì	46	and	name	нд2	5	i i	48	and	name	HN )	ì	47	and	name	нъ	3 3 5
ì	10	and	nomo	TINT	$\gamma$	10	and	nomo	11112 )	, J		10	and	nomo	TINT )		17	and	nomo	11120	) 5.0
(	48	and	name	HIN	) (	4/	and	name	ны ,	) 5		48	and	name	HN )	(	4/	and	name	нвг	) 5.0
(	48	and	name	HN	) (	48	and	name	HA1 )	) 3	.5 (	48	and	name	HN )	) (	48	and	name	HA2	) 2.7
(	48	and	name	HN	) (	49	and	name	HA2	) 5	.0 (	48	and	name	HN )	) (	49	and	name	HN	) 3.5
ì	48	and	name	HN	ί	52	and	name	на 1	5	î î	48	and	name	HN )	ì	52	and	name	нв 3	) 35
>	10	and	manic	TIN		52	and	manic	11/1 )	2		10	and	manic			52	and	manic	1100+	, 5.5
(	48	and	name	HIN	) (	54	and	name	HGI ,	) 3	.5 (	48	and	name	HIN )	(	52	and	name	HGZ^	) 2.1
(	48	and	name	HN	) (	71	and	name	HB )	) 5	.0 (	48	and	name	HN )	) (	71	and	name	HD1*	) 5.0
(	48	and	name	HN	) (	71	and	name	HG11	) 5	.0 (	48	and	name	HN )	) (	71	and	name	HG2*	) 5.0
ì	10	and	namo	LINT	$\hat{\boldsymbol{\lambda}}$	12	and	nomo	UD1*	, - , -		10	and	nomo	LINT )	ì	12	and	nomo	UC2*	, E 0
	10	anu	manne	1110		10	and	manie	IIDI )	2		10	and	manie	111N )		10	anu	manie	IIG2	, 5.0
(	49	ana	name	HN	) (	4 /	ana	name	HBI )	) 5	.0 (	49	ana	name	HN )	) (	4/	ana	name	HBZ ,	) 5.0
(	49	and	name	HN	) (	48	and	name	HA1	) 3	.5 (	49	and	name	HN )	) (	48	and	name	HA2	) 3.5
ì	49	and	name	HN	í ì	49	and	name	нд1	3	5 (	49	and	name	HN )	ì	49	and	name	нд2	27
>	10	ana	manic	1110			ana	manic	1171 )			10	ana	manic	111v )			ana	manic	IIA2	, 2.,
(	49	ana	name	HN	) (	50	ana	name	HDI )	) 5	.0 (	49	ana	name	HN )	) (	50	ana	name	HDZ ,	) 5.0
(	49	and	name	HN	) (	52	and	name	HB )	) 5	.0 (	49	and	name	HN )	) (	52	and	name	HG1	) 3.5
(	49	and	name	HN	) (	52	and	name	HG2*	) 5	0 (	49	and	name	HN )	) (	71	and	name	HG2*	5.0
ì	E 1	and	nomo	TINT	$\langle \rangle$	EO	and	nomo	1100	2		E 1	and	nomo	TINT )		FO	and	nomo	1101	) 3.0 ) 3.0
(	5 T	ana	Itallie	ПN	) (	50	and	name	пА	2	• (	21	ana	Italle	HIN )	(	50	ana	name	пы	) 3.5
(	51	and	name	HN	) (	50	and	name	HB2 )	) 5	.0 (	51	and	name	HN )	) (	51	and	name	HAl ,	) 3.5
(	51	and	name	HN	) (	51	and	name	HA2	) 2	.7 (	51	and	name	HN )	) (	52	and	name	HB	) 5.0
ì	51	and	name	HN	í ì	52	and	name	HG1	5	in i	51	and	name	HN )	ì	52	and	name	HC2*	5 0
>	5 ±	and	manne	1111		71	and	manic	TIOT )			- 1	ana	manne	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		71	and	manic	1102	, 5.0
(	51	and	name	HIN	) (	/1	and	name	нв ,	) 3	.5 (	51	and	name	HIN )	(	/1	and	name	HDI^	) 5.0
(	51	and	name	HN	) (	71	and	name	HG11 )	) 5	.0 (	51	and	name	HN )	) (	71	and	name	HG2*	) 3.5
(	51	and	name	HN	) (	72	and	name	HA	) 5	.0 (	52	and	name	HN )	) (	45	and	name	HB1	) 5.0
ì	52	and	name	HN	í ì	46	and	name	нд1	5	i i	52	and	name	HN )	ì	47	and	name	HN	5 0
>	52	and	manic	TIN		10	and	manic	1171 )			52	and	manic			10	and	manic	1110	, 5.0
(	22	ana	name	TIN	) (	48	and	name	HIN ,	5	(	24	and	name	HIN )	(	49	and	name	TIN	, 5.0
(	52	and	name	HN	) (	50	and	name	HA )	) 3	.5 (	52	and	name	HN )	) (	50	and	name	HB1	) 5.0
(	52	and	name	HN	) (	51	and	name	HA1	) २	.5 i	52	and	name	HN )	1 (	51	and	name	HA2	) 5.0
2	50	and	nomo	UN	í í	L 1	and	nomo	UNT Y	, J	5 (	50	and	nome	יייייי) נואד י	1	E 0	and	nomo	<u>ил</u>	, 3.0 ) 2 -
Ş	52	and	naille			ът	and	naille		, 3		22	and	naille	пи )		52	and	naille	nn uci	,
(	52	and	name	HN	) (	52	and	name	нв )	) 2	. 7 (	52	and	name	HN )	) (	52	and	name	HGI	) 2.7
(	52	and	name	HN	) (	52	and	name	HG2*	) 5	.0 (	52	and	name	HN )	) (	70	and	name	HA	) 5.0
i	52	and	name	HN	ì	71	and	name	нв 1	) 7	.5 ì	52	and	name	HN N	ì	71	and	name	HD1*	) 5 0
>	50	22-10	nom-	UNT	, \ \ <i>\</i>	, <u>+</u> 71	222	nome	UC11	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	0	E 0	222	nome	LINT )		· ±	222	nome	UC10	, 5.0
ç	22	ana	nallie	LIIN		11	and	nalle	ngil )	2 2	(	24	and	naille	11IN )		/ 1	and	nalle	ngiz .	, 5.0
(	52	and	name	HN	) (	71	and	name	HG2* )	) 5	.0 (	53	and	name	HN )	) (	43	and	name	HG2*	) 5.0
(	53	and	name	HN	) (	44	and	name	HB*	) 5	.0 (	53	and	name	HN )	) (	45	and	name	HB1	) 5.0
ì	53	and	name	HN	ί	45	and	name	HB2	3	5 (	53	and	name	HN )	i	45	and	name	нр1	5 0
>	55	and	manne	TINT		15	and	manne	TIDE )	, ,		55	and	manne			10	and	manne	1101	, 5.0
(	53	and	name	HIN	) (	45	and	name	HIN ,	) 3	.5 (	53	and	name	HIN )	1 (	40	and	name	HAL	) 5.0
(	53	and	name	HN	) (	46	and	name	HN )	) 5	.0 (	53	and	name	HN )	) (	48	and	name	HN .	) 5.0
(	53	and	name	HN	) (	52	and	name	HA )	) 2	.7 (	53	and	name	HN )	) (	52	and	name	HB	) 5.0
ì	53	and	namo	LINI	ί ζ	52	and	name	UC1	5	in i	53	and	namo		ì	52	and	name	uc2*	) 27
ì	55	and	manne	TIN		52	and	manie	IIGL )			55	and	manne	TIN )		52	and	manie	1162	
(	53	and	name	HIN	) (	54	and	name	HIN ,	) 5	.0 (	53	and	name	HIN )	(	53	and	name	на	) 3.5
(	53	and	name	HN	) (	53	and	name	HB )	) 2	7 (	53	and	name	HN )	) (	53	and	name	HD1*	) 5.0
(	53	and	name	HN	) (	53	and	name	HG2*	) 5	.0 (	53	and	name	HN )	) (	54	and	name	HG*	) 5.0
í	53	and	name	HN	) (	71	and	name	HN	) 5	0 (	54	and	name	HN )	) (	53	and	name	НА	) 2.7
ì	51	and	namo	LINT	$\hat{\}$	52	and	nomo	UD )	, 5 \ 5		5 A	and	namo	LINT )	ì	52	and	nomo	UC2*	, 2,7
	51	anu	manie	1110		55	and	manie	1110 )	, ,		51	anu	manie	111N )		55	anu	manie	1162	, 2.,
(	54	ana	name	HN	) (	53	ana	name	HN ,	) 5	.0 (	54	and	name	HN )	) (	54	and	name	HA	) 3.5
(	54	and	name	HN	) (	54	and	name	HBI )	) 3	.5 (	54	and	name	HN )	) (	54	and	name	HB2	) 3.5
(	54	and	name	HN	) (	54	and	name	HG*	) 3	.5 (	54	and	name	HN )	) (	55	and	name	HN	) 5.0
ì	54	and	name	HN	) (	68	and	name	НА	5	.o (	54	and	name	HN )	i	69	and	name	HB1	5.0
ì	51	and	nomo	LINI	$\hat{\boldsymbol{\lambda}}$	60	and	nomo	UD2	, J		5 /	and	nomo	LINT )	ì	60	and	nomo	UN	) 2.5
	54	anu	name	FIIN		09	anu	Italle	пьс ,	5		54	anu	name			09	anu	Italle	HIN .	, 5.5
(	54	ana	name	HN	) (	/1	ana	name	HN )	) 5	.0 (	55	ana	name	HN )	) (	4 L	ana	name	HA ,	) 5.0
(	55	and	name	HN	) (	42	and	name	HA )	) 5	.0 (	55	and	name	HN )	) (	42	and	name	HB1	) 5.0
(	55	and	name	HN	) (	43	and	name	HA )	) 3	.5 (	55	and	name	HN )	) (	43	and	name	HG2*	) 5.0
ì	55	and	name	HN	ί	54	and	name	НА	) 2	7 i	55	and	name	HN )	ì	54	and	name	HB1	5 0
>	55	and	manic	TIN		51	and	manic	IIA ,		., .	55	and	manic				and	manic	TIDI	, 5.0
(	22	and	name	HIN	) (	54	and	name	нвд ,	) 5		55	and	name	HIN )	1 (	54	and	name	HG*	) 5.0
(	55	and	name	HN	) (	55	and	name	HA )	) 3	.5 (	55	and	name	HN )	) (	55	and	name	HB1 ,	) 3.5
(	55	and	name	HN	) (	55	and	name	HB2	) 3	.5 (	56	and	name	HN )	) (	55	and	name	HA	) 2.7
ì	56	and	name	HN	í í	55	and	name	HB1	5	i i	56	and	name	HN )	ì	55	and	name	HB2	5 0
>	50	and	manne	TINT		55	and	manne	1101 )	, J , J		50	and	manne			55	and	manne	IID2	) 3.0 ) 3.5
ç	эc	ana	nane		<u>, (</u>	20	ana	name	пА	3	.5 (	20	ana	nane	ПIN )	(	эc	ana	name	пв	, 3.5
(	56	and	name	HN	) (	56	and	name	HD1* )	) 5	.0 (	56	and	name	HN )	) (	56	and	name	HG11	) 3.5
(	56	and	name	HN	) (	56	and	name	HG12	) 5	.0 (	56	and	name	HN )	) (	56	and	name	HG2*	) 5.0
ì	56	and	name	HN	ì	57	and	name	HN	) 5	i o ì	56	and	name	HN V	ìì	67	and	name	HG2*	) 2 5
ì	50	and	nome	TINT	· ·	60	02.2	nome	117	, J		50	and	nome	TINT )		60	000	nome	1104	, 5.5
(	20	ana	name	TIN	) (	80	and	name	пА )	3		20	and	name	HIN )	(	69	and	name	пв*	, 5.0
(	57	and	name	HN	) (	38	and	name	HA )	) 5	.0 (	57	and	name	HN )	) (	40	and	name	HB*	) 5.0
(	57	and	name	HN	) (	40	and	name	HN	) 3	.5 (	57	and	name	HN )	) (	41	and	name	HA	) 3.5
i	57	and	name	HN	ì	56	and	name	НА У	) ວ	.7 ì	57	and	name	HN V	i	56	and	name	HB	) 5 0
>	57	and	nome	UN	( )	50	and	nome	UD1*	, <u>2</u> , г	0	57	and	nome	LINT )		50	and	nome	UC11	, 5.0
(	57	and	naille			00	ana	naille	UDI.	2	(	5/	and	naille	пи )		50	ana	naille	ngil .	, 5.0
(	57	and	name	HN	) (	56	and	name	HG12 )	) 5	.0 (	57	and	name	HN )	) (	56	and	name	HG2*	) 3.5
(	57	and	name	HN	) (	57	and	name	HA )	) 3	.5 (	57	and	name	HN )	) (	57	and	name	HB	) 5.0
i	57	and	name	HN	ì	57	and	name	HG2*	) 2	.5 i	5.8	and	name	HN V	i	29	and	name	HB2	) 5 0
ì	50	and	name	UN	$\langle \rangle$	57	and	nome	цу )	, ,		E 0	and	name	LINT )		59	and	nome	UD	, J.U \ 5 F
(	20	ana	name	HIN	) (	57	and	name	HA ,			20	ana	Itallie	HIN )		57	ana	name	пв	) 3.3
(	58	and	name	HN	) (	57	and	name	HG2*	3	.5 (	58	and	name	HN )	) (	57	and	name	HN	) 5.0
(	58	and	name	HN	) (	58	and	name	HA )	) 3	.5 (	58	and	name	HN )	) (	58	and	name	HB1	) 5.0
(	58	and	name	HN	) (	58	and	name	HB2	) 5	.o ì	58	and	name	HN N	i	58	and	name	HD*	) 3.5
ì	50	and	namo	HN	í ì	50	and	namo		, 5 , F	0 /	50	and	name	HN Y	<i>; ; ;</i>	50	and	namo	HN	, 5.5 , 5.0
~	50	unu	manie	TINT		50	unu ar 7	manie	1111 )	, 0		50	and	maille	111N )		20		manie	111N .	,
(	ъъ	and	name	HIN	) (	05	and	name	HIN )	3		58	and	name	ни )	(	00	and	name	пΑ	1 3.5
(	58	and	name	HN	) (	66	and	name	HB* )	) 3	.5 (	58	and	name	HN )	) (	67	and	name	HN	) 5.0
(	59	and	name	HN	) (	38	and	name	HA )	) 5	.0 (	59	and	name	HN )	) (	39	and	name	HB1	) 5.0
(	59	and	name	HN	) (	39	and	name	HB2	) 5	.o i	59	and	name	HN N	i	39	and	name	HE*	) 5.0
ì	50	and	name	HN	í ì	20	and	name	HN	5		50	and	name	HN V	ì	50	and	name	нд	, 2.0 , 2.7
>	59	0	name	TINT		55	0	name		, 0		55	0	name	111N )		50	0	name	110.0	, <u> </u>
(	59	and	name	HN	) (	58	and	name	HRT )	3	.5 (	59	and	name	HN )	(	58	and	name	нв2	, 5.0
(	59	and	name	HN	) (	58	and	name	HD* )	) 5	.0 (	59	and	name	HN )	) (	59	and	name	HA1	) 3.5
(	59	and	name	HN	) (	59	and	name	HA2	) 2	.7 (	60	and	name	HN )	) (	59	and	name	HA1	) 3.5
(	60	and	name	HN	) (	59	and	name	HA2	) 3	.5 Ì	60	and	name	HN )	) (	59	and	name	HN	) 5.0
ì	60	and	namo	HN	ì	60	and	namo	на У	ر ۲	n i	60	and	name	HN V	ì	60	and	namo	HR*	) 2 ⊑
	60	anu	name	TINT		60	and	name	110+	, 5		61	and	name			60	and	name	7117	, 3.5
(	00	ana	name	HIN .	) (	00	and	name	пG*	5	.0 (	υL	and	name	rin )	(	00	and	name	пА	1 3.5
(	61	and	name	HN	) (	60	and	name	HB1 )	) 5	.0 (	61	and	name	HN )	) (	60	and	name	HB2	) 5.0
(	61	and	name	HN	) (	60	and	name	HG*	) 5	.0 (	61	and	name	HN )	) (	61	and	name	HA1	) 3.5
(	61	and	name	HN	) Ì	61	and	name	HA2	) 3	.5 ì	63	and	name	HE21 )	ì	63	and	name	HG1	) 5.0
ì	62	and	name	<u></u> つつ	í í	62	and	name	UC1 )	. J	0 /	61	and	name	UN )	ì	61	and	name	<u>ил</u>	) 2.0
2	03	anu	manie			03	and	manie	1101 )	, 5	(	64	and	maille	111N )		04	and	manie	1120	, 3.5
(	b4	and	name	HIN	) (	b4	and	name	HRT	1 3	.5 (	64	and	name	HN )	) (	ь4	and	name	HBZ	1 3.5

( 64 and name HN	) ( 64 and name HD*	) 5.0 (6	54 and name HN )	(65 and name HN ) 5.0
( CE and name IN	) ( 64 and name II)		E and name IN )	(64 and name III) ) E (
( 65 and name HN	) ( 64 and name HA	) 2.7 (6	) and name HN	( 64 and name HBL ) 5.0
( 65 and name HN	) ( 65 and name HA1	) 3.5 (6	55 and name HN )	(65 and name HA2) 3.5
66 and name HN	) ( 58 and name HF*	) 50 (6	6 and name HN )	(58 and name HN) 5 (
		) 5.0 ( (	fo and name inv )	
( 66 and name HN	) ( 65 and name HAI	) 3.5 (6	6 and name HN )	(65 and name HA2) 3.5
( 66 and name HN	) ( 65 and name HN	) 5.0 (6	66 and name HN )	(66 and name HA) 3.5
( CC and name III	) ( CC and name ID*			( C and name IID + ) 2.5
( 66 and name HN	) ( 66 and name HB*	) 5.0 (6	o and name HN )	( 66 and name HD* ) 3.5
( 66 and name HN	) ( 66 and name HE*	) 5.0 (6	56 and name HN )	( 67 and name HG1* ) 5.0
66 and name HN	) (67 and name HN	) 50 (6	6 and name HN )	$(88 \text{ and name } \mathbb{H}\lambda^2) = 5$
( 00 and name HN		) 5.0 ( 0	jo and name fin )	
( 66 and name HN	) ( 89 and name HB1	) 5.0 (6	57 and name HN )	(56 and name HB) 3.5
( 67 and name HN	) ( 56 and name HN	) 35 (6	7 and name HN )	(57 and name HA) 3 P
		) 5.5 ( 6		
( 67 and name HN	) ( 57 and name HG2*	) 5.0 (6	o'/ and name HN )	(57 and name HN ) 5.0
( 67 and name HN	) ( 58 and name HE*	) 50 (6	57 and name HN )	(66 and name HA) 2 7
		) 5.0 ( 0		
( 67 and name HN	) ( 66 and name HB*	) 3.5 (6	) and name HN )	(66 and name HD*) 3.5
( 67 and name HN	) ( $67$ and name HA	) 35 (6	57 and name HN )	(67 and name HB) 5 (
			/ and name inv /	
( 67 and name HN	) ( 6/ and name HGI*	) 3.5 (6	) and name HN	( 6/ and name HGZ^ ) 3.5
( 68 and name HN	) ( 55 and name HA	) 5.0 (6	58 and name HN )	(66 and name HD*) 5.(
( 60 and name IIN	) ( 66 and name IIE*		, and name IIN )	(67 and name IIA ) 0 7
( 66 and name HN	) ( 66 and name HE"	) 5.0 (6	o and name fin )	( 67 and name HA ) 2.
( 68 and name HN	) ( 67 and name HB	) 2.7 (6	58 and name HN )	( 67 and name HG1* ) 3.5
68 and name UN	1 (67 and name UC2*	1 35 (6	Sand name UN )	(68 and name HA) ) 3 F
		) 5.5 ( 0		
( 68 and name HN	) ( 68 and name HB*	) 3.5 (6	98 and name HN )	( 69 and name HD2 ) 5.0
( 68 and name HN	) ( 85 and name HD1*	) 3.5 (6	58 and name HN )	(85 and name HG) 5.(
	) ( 06 and name 101			
( 68 and name HN	) ( 86 and name HGII	) 5.0 (6	s and name HN )	(8/ and name HBZ ) 5.0
( 68 and name HN	) ( 88 and name HA1	) 5.0 (6	58 and name HN )	(88 and name HA2) 5.(
( 60 and name UN	(E2 and name II)		o and name UN )	( E2 and name IIC2* ) 2 E
( 69 and name HN	) ( 55 and name HA	) 5.0 (6	) and name HN	( 55 and name HGZ" ) 5.5
( 69 and name HN	) ( 54 and name HB*	) 3.5 (6	9 and name HN )	(54 and name HG*) 5.0
(69 and name UN	) (55 and name $\mathbf{U}^{\Lambda}$		ig and name UNI	(55 and name UN ) E
		, ,,,, ((		
( 69 and name HN	) ( 56 and name HD1*	) 5.0 (6	у and name HN )	(56 and name HN ) 5.0
( 69 and name HN	) ( 68 and name H∆	) 2.7 (6	59 and name HN 1	(68 and name HR1) 5 (
( CO and many INT		,, ((	C and name III )	
oy and name HN	, too and name HB2	, 5.0 (6	) and name HN )	( oo anu name HN ) 5.0
( 69 and name HN	) ( 69 and name HA	) 3.5 (6	59 and name HN )	( 69 and name HB1 ) 5.0
( 60 and name IN	) ( 60 and name IID?	) 2 5 / 4	and name INI	(60  and name ID)
, og and name HN	/ ( os anu name HBZ	, 3.5 (6	janu name HN )	( us and name HDZ ) 5.0
( 70 and name HN	) ( 69 and name HA	) 2.7 (7	/O and name HN )	( 69 and name HB* ) 3.5
(70 and name UN	) ( 60 and name UD?		10 and name UN	(60 and name HN ) E (
		) 5.0 ( )		
( 70 and name HN	) ( 70 and name HA	) 3.5 (1	(0 and name HN )	( 70 and name HBL ) 3.5
( 70 and name HN	) ( 70 and name HB2	) 35 (5	70 and name HN )	$(83 \text{ and name HB}^*) = 5$
		) 5.5 ( 1		
( 70 and name HN	) ( 83 and name HD*	) 5.0 ( )	(U and name HN )	(84 and name HB ) 3.5
( 70 and name HN	) ( 84 and name HN	) 3.5 (5	10 and name HN )	(85 and name HA) 5.(
( 70 and name IIN	) ( OF and name IN		70 and name IIN )	( 0C and name IICO+ ) 2 [
( / ) and name HN	) ( os and name HN	) 5.0 (	() and name HN )	( ob and name HGZ" ) 5.5
( 70 and name HN	) ( 86 and name HN	) 5.0 (7	/l and name HN )	(51 and name HN ) 5.0
(71 and name HN	) ( 52 and name HN	) 50 (5	(1 and name HN )	(53  and name HA) 3
			1 and name inv )	
( / I and name HN	) (70 and name HA	) 2.7 (	(1 and name HN )	( /U and name HBL ) 5.0
( 71 and name HN	) ( 70 and name HB2	) 5.0 (7	/1 and name HN )	(71 and name HA ) 3.5
(71 and name HN	) (71 and name HB	) 35 (5	(1 and name HN )	(71 and name HD1*) 5 (
		) 3.5 ( 1		
( / I and name HN	) ( /I and name HGII	) 3.5 (	(1 and name HN )	( /I and name HGIZ ) 3.5
( 71 and name HN	) ( 71 and name HG2*	) 5.0 (7	/1 and name HN )	(72 and name HN ) 5.0
(72 and name UN	) (71 and name $\Psi$ )	) 27 (5	(2 and name UN )	(71 and name UD1*) 5 (
( 72 and name HN	) ( 71 and name HG12	) 5.0 ( )	(2 and name HN )	( 71 and name HG2* ) 3.5
( 72 and name HN	) (72 and name $HA$	) 35 (5	12 and name HN )	(72 and name HB1 ) 5 (
	) ( 72 and name IID)			(72 and name not ) 5.0
( /2 and name HN	) ( /2 and name HB2	) 3.5 (	(2 and name HN )	(/3 and name HB <sup>*</sup> ) 5.0
( 72 and name HN	) ( 82 and name HB2	) 5.0 (7	72 and name HN )	(83 and name HA) 2.7
(72 and name HN	) (83 and name UP*	) 35 ("	/2 and name HN )	(83 and name UD*) 5 (
		) 5.5 ( 1		
( 72 and name HN	) ( 83 and name HN	) 5.0 ( )	(3 and name HN )	(50 and name HA ) 5.0
( 73 and name HN	) ( 71 and name HA	) 5.0 (5	73 and name HN )	(71 and name HG2*) 3.5
(72 and name IN	(72  and name III)		2 and name IN )	(72 and name IID1 ) 2 [
( / S and name HN	) ( /2 and name HA	) 3.5 (	(s and name fin )	
( 73 and name HN	) ( 72 and name HB2	) 3.5 (7	73 and name HN )	(72 and name HN ) 3.5
(73 and name UN	) (73 and name $\Psi$ )	1 25 ( 7	/ and name UN	(73 and name UP* ) 3 F
		) 5.5 ( )		
( 73 and name HN	) ( 81 and name HA	) 5.0 ( )	/3 and name HN )	(81 and name HD*) 5.0
( 73 and name HN	) ( $82$ and name HA	) 50 (5	73 and name HN )	(82 and name HB*) 3 P
(72 and name IN	) ( 02 and name III		2 and name INI )	( 02 and name IID* ) 5.0
( / 3 and name HN	/ ( 83 and name HA	, 5.0 ( )	(sanu name HN )	(os and name HB^) 5.0
( 73 and name HN	) ( 83 and name HD*	) 5.0 (7	74 and name HN )	(50 and name HD2) 5.0
(74 and name UN	) (73 and name $\Box$	1 2 7 1 7	/4 and name UNI	(73 and name UP* ) )
		1 4.1		
( 74 and name HN	) ( 73 and name HN	) 5.0 (7	(4 and name HN )	(74 and name HA ) 3.5
(74 and name HN	) (74 and name HB	) 35 (5	74 and name HN )	(74  and name HD1*) 5 (
		, 5.5 ( 1		
( /4 and name HN	) ( /4 and name HGII	) 5.0 (	(4 and name HN )	(74 and name HG12) 5.0
( 74 and name HN	) ( 74 and name HG2*	) 5.0 (5	75 and name HN )	(19 and name HE*) 3.5
( 75 and name this	$)$ ( 22 and normal 1101 $\pm$		/F and name the	(74 and name 117 ) 0.5
( /s and name HN	/ <pre>/ <pre>25 and name HGL*</pre></pre>	, 5.0 (	janu name HN )	( /ч апо паше на ) 2.
( 75 and name HN	) ( 74 and name HB	) 5.0 (7	/5 and name HN )	(74 and name HD1*) 5.0
(75 and name UN	) (74 and name UC11	) 35 / 7	/5 and name UNI N	(74 and name HC12) E
		,		
( /5 and name HN	) ( 74 and name HG2*	) 5.0 (7	(5 and name HN )	(/5 and name HA ) 3.5
( 75 and name HN	) ( 75 and name HB1	) 3.5 (7	75 and name HN )	(75 and name HB2) 3 F
(75 and name INT	) (76 and name $II$	) 5 0 / 7	/5 and name INI	(76  and name INI )
( /S and name HN	/ /o and name HA	, 5.0 (	j and name HN )	( /o and name HN ) 3.5
( 75 and name HN	) ( 80 and name HB2	) 3.5 (7	/5 and name HN )	(80 and name HN ) 3.5
(75 and name HN	) (81 and name HA	) 35 (	/5 and name HN N	(81 and name HR? ) 5 (
		, ( .		
( /6 and name HN	) ( 19 and name HE*	) 5.0 (7	ю and name HN )	( /4 and name HG2* ) 5.0
( 76 and name HN	) ( 75 and name HA	) 2.7 ( 7	6 and name HN )	(75 and name HB1 ) 5 (
(76 and name UN	) (75 and name $UP^2$	) <u>5</u> 0 / 7	76 and name UN	$(76 \text{ and name } \square )$
, /o and name HN	/ / / J and name HB2	, (	( and name HN )	( /o and name nA ) 3.5
( 76 and name HN	) ( 76 and name HB*	) 3.5 (7	/6 and name HN )	( 76 and name HG1 ) 5.0
(76 and name HN	) (76 and name HC?	) 50 / 5	76 and name मण ं	(77 and name HR* ) 5 (
		, , .		
( /6 and name HN	) ( 77 and name HG*	) 5.0 (7	ю and name HN )	(77 and name HN ) 3.5
( 76 and name HN	) ( 78 and name HD21	) 5.0 ( 7	6 and name HN )	(78 and name HN ) 5 (
(77 and name this	) ( 10 and normal $TT^+$		7 and name the	(75 and name 117 ) 2.5
		, (	, and name HN )	( 15 and Halle HA ) 3.5
( 77 and name HN	) ( 75 and name HB1	) 5.0 (7	(/ and name HN )	( 75 and name HB2 ) 5.0
( 77 and name HN		) 3.5 ( 7	77 and name HN N	(76 and name HR*) 2 P
	) (76 and name $H\Lambda$	,		(, o and name no ) 3.5
( 77 and	) (76 and name HA		77 and	( 77 and 177 ) ? ?
( 77 and name HN	) ( 76 and name HA ) ( 76 and name HG*	) 5.0 (7	7 and name HN )	(77 and name HA ) 3.5
(77 and name HN (77 and name HN	) ( 76 and name HA ) ( 76 and name HG* ) ( 77 and name HB*	) 5.0 (7)	77 and name HN ) 77 and name HN )	(77 and name HA ) 3.5 (77 and name HG* ) 3.5
(77 and name HN (77 and name HN (77 and name HN	) ( 76 and name HA ) ( 76 and name HG* ) ( 77 and name HB*	) 5.0 (7)	77 and name HN ) 77 and name HN )	(77 and name HA ) 3.5 (77 and name HG* ) 3.5 (78 and name HD1 ) 5.6
(77 and name HN (77 and name HN (77 and name HN	) ( 76 and name HA ) ( 76 and name HG* ) ( 77 and name HB* ) ( 78 and name HA	) 5.0 ( 7 ) 2.7 ( 7 ) 5.0 ( 7	77 and name HN ) 77 and name HN ) 77 and name HN )	(77 and name HA) 3.5 (77 and name HG*) 3.5 (78 and name HB1) 5.0
<ul> <li>(77 and name HN</li> </ul>	) ( 76 and name HA ) ( 76 and name HG* ) ( 77 and name HB* ) ( 78 and name HA ) ( 78 and name HA	) 5.0 (7 ) 2.7 (7 ) 5.0 (7 ) 5.0 (7	77 and name HN ) 77 and name HN ) 77 and name HN ) 77 and name HN ) 77 and name HN )	(77 and name HA ) 3.5 (77 and name HG* ) 3.5 (78 and name HB1 ) 5.0 (78 and name HD22 ) 5.0
(77 and name HN (77 and name HN (77 and name HN (77 and name HN (77 and name HN	) ( 76 and name HA ) ( 76 and name HG* ) ( 77 and name HB* ) ( 78 and name HA ) ( 78 and name HD21 ) ( 78 and name HN	) 5.0 (7) ) 2.7 (7) ) 5.0 (7) ) 5.0 (7) ) 2.7 (7)	77 and name HN ) 77 and name HN )	(77 and name HA) 3.5 (77 and name HG*) 3.5 (78 and name HB1) 5.0 (78 and name HD22) 5.0 (79 and name HN) 5.0
(77 and name HN (77 and name HN	) (76 and name HA ) (76 and name HG* ) (77 and name HB* ) (78 and name HA ) (78 and name HD21 ) (78 and name HN ) (77 and name HN	) 5.0 (7 ) 2.7 (7 ) 5.0 (7 ) 5.0 (7 ) 2.7 (7	77 and name HN ) 77 and name HN ) 77 and name HN ) 77 and name HN ) 77 and name HN ) 78 and name HN )	(77 and name HA ) 3.5 (77 and name HG* ) 3.5 (78 and name HB1 ) 5.0 (78 and name HD22 ) 5.0 (79 and name HN ) 5.0

( 7	18 and	name	HD21	) (7	8 and	a name	ЧΔ	) 5	50 (	78	and	name	HD21	)	( 78
	o and		IIDZ1	/ <u>/ /</u>	o and		114	! -		70	and	manie	11021	! '	, 70
( 7	'8 and	i name	HDZI	) ( 7	8 and	i name	HBZ	) :	3.5 (	78	and	name	HDZT	) (	( 78
( 7	78 and	name	HD21	) (7	9 and	1 name	HN	) [	5.0 (	78	and	name	HD22	)	(77
	70 4110	1	TIDDI		7	1	1110	· ·	- 0	70	ana	manic	TIDDD	(	, ,,
( /	's and	i name	HDZZ	) ( /	/ and	i name	HBZ	) 5	5.0 (	. 78	ana	name	HDZZ	) (	( //
(7	78 and	l name	HD22	) (7	8 and	l name	HA	) 5	5.0 (	78	and	name	HD22	)	(78
ì	10 200	a nomo	UD22	, ì 7	0 200	a nomo	UD 2	ί Γ	- 0	70	and	namo	UD22	í.	070
( /	o and		праа		o and		пба	/ -	5.0	/0	anu	Itallie	HDZZ	! !	( /0
(7	/8 and	l name	HD22	) (7	9 and	l name	HN	) 5	5.0 (	78	and	name	HN	) (	(75
ìन	10 000	1	TINT	, ì u	E amo	a nomo	1 1 1	1 -		70	and		TINT	í.	1 76
( /	o and	i name	HIN	) ( /	5 and	i name	пыт	) -	5.5 (	/0	and	name	HIN	/ /	( /0
( 7	78 and	l name	HN	) (7	7 and	l name	HA	) 3	3.5 (	78	and	name	HN	) (	(77
ìन	10 000	1	TINT	, ì u	7	a nomo	110*	1 -		70	and		TINT	í.	, 70
( /	o and	i name	HIN	) ( /	/ and	1 maille	HG	) :	5.5 (	, /0	ana	name	TIN	) '	( /0
(7	78 and	l name	HN	) (7	8 and	1 name	HB1	) 2	2.7 (	78	and	name	HN	) (	(78)
ìन	10 000	1	TINT	, ì u	0	a nomo		ί σ	- 0	70	and		TINT	í.	10
( /	o and	i name	HIN	) ( /	9 and	1 maille	HD.	) :	5.0 (	. 19	ana	name	TIN	) '	( 19
(7	/9 and	l name	HN	) (7	5 and	l name	HB1	) 5	5.0 (	79	and	name	HN	) (	(75
ì	10 200	a nomo	LINT	, i 7	6 200	a nomo	UЛ	i -		70	and	n	LINT	ί.	. 77
( /	9 and		пім	, ( ,	0 and		пА	/ -	5.5	19	anu	Itallie	TIN	/	( //
( 7	79 and	l name	HN	) (7	8 and	l name	HA	) 3	3.5 (	79	and	name	HN	) (	(78
ì	10 200	a nomo	LINT	\ i 7	0 220	a nomo	LINT	i c	י די ב	70	and	n - m -	LINT	í.	1 70
( /	9 and		пім	, ( ,	o and		LUN	/ 4	2./	19	anu	Itallie	ПN	/	( / 9
(7	/9 and	l name	HN	) (7	9 and	l name	HB1	) 5	5.0 (	79	and	name	HN	) (	(79
ì	10 200	nomo	LINT	í ì ⁊	0 200	a nomo	UD*	í -	2 5 /	70	and	n	LINT	í.	ion
( /	5 and		1111	, , ,	Jain			/ -	5.5		anu	manie	TIIN	! '	00
( 8	30 anc	i name	HN	) ( 1	9 and	1 name	HD*	) 5	5.0 (	80	and	name	HN	) (	(19
( 8	l and	name	HN	) (7	4 and	l name	НΣ	) [	50 /	80	and	name	HN	)	( 74
				( ) <u></u>	- and	1 11011110				00	ana	manic		(	
( 8	su and	i name	HN	) ( /	5 and	i name	HA	) :	5.0 (	80	ana	name	HN	) (	( /5
( 8	30 and	name	HN	) (7	5 and	1 name	HB2	) .	3.5 (	80	and	name	HN	)	(76
ìõ	0	1	TINT	, , , ,	0	]	1100	, - , -	- 0	00			TINT	ί.	0 70
( 0	o and	i name	HIN	) ( /	o and	i name	пви	) =	5.0 (	00	and	name	HIN	/ /	( /0
(8	30 and	l name	HN	) (7	9 and	l name	HA	) 3	3.5 (	80	and	name	HN	) (	(79
i o	o and	a nomo	LINT	, i 7	0 200	a nomo	UD 2	, , E	= 0	00	and	n	LINT	ί.	1 70
, 8	o anc	, maille	T T T N	( ) /		, maille	1104	( -		00	and	maille	T T T N	!!	, , , ,
(8)	su and	1 name	HN	) (8	U and	1 name	HA	) 3	3.5 (	80	and	name	HN	) (	(80)
( 9	30 and	name	HN	) ( 2	0 and	] name	HR2	) :	3.5 /	<u>80</u>	and	name	HN	)	( 81
, 0			1111	, , 0	5 410		1122	( -		00	und '	manic		(	(101
(8)	su and	1 name	HN	) (10	3 and	1 name	HA	) 5	5.U (	80	and	name	HN	) (	(104
( 8	31 and	name	HN	) (1	9 and	l name	HE*	) [	5.0 (	81	and	name	HN	)	(80
ì	1	1	TINT	, , <u>+</u>	0		1101	; -		01			1111	ί.	,
( 8	o⊥ anc	i name	HIN	, (8	u and	, name	нвт	1 -	o.o (	×Τ	and	name	HIN	, ,	08
( 8	31 and	l name	HN	) (8	0 and	l name	HN	) 「	5.0 (	81	and	name	HN	)	(81
ì	)1	1	TINT		1	1	11101	; -		01	0		TINT	1	01
( 8	o⊥ anc	i name	HIN	, ( 8	_ and	, name	ныт	1 -	5.5 (	QT	and	name	HIN	1	( QT
( 8	31 and	l name	HN	) (8	1 and	l name	HD*	) 5	5.0 (	81	and	name	HN	) (	(82
( 0	21	h name	HN	) /10	1 200	- I namo	нл	) [	50	Q 1	and	namo	HN	5	(100
( 0	or and		пім	) (10	I and		пА	/ -	5.0	01	anu	Itallie	ПN	! !	(IUZ
(8)	31 and	l name	HN	) (10	2 and	l name	HB	) 5	5.0 (	81	and	name	HN	) (	(102)
( 9	21 and	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	LINI	) (10	3 200	1 namo	uл	1 7	25 /	Q 1	and	namo	LINI	1	102
( 0			1111		5 and		114	! =	5.5	UT OT	and	manie	1111	! '	(105
( 8	3⊥ anc	i name	HN	) (10	4 and	i name	HN	) 5	5.0 (	82	and	name	HN	) (	(23
( 8	2 and	name	HN	) (7	3 and	1 name	HN	) :	25 (	82	and	name	HN	)	( 74
			1110		J und		1110	( -		02	ana	manic	1111	(	( /1
( 8	32 and	i name	HN	) ( 7	4 and	i name	HG2*	) 5	5.U (	82	and	name	HN	) (	( 8T
( 8	2 and	name	HN	) (8	1 and	1 name	HB1	) [	5.0 (	82	and	name	HN	)	(81
		1	1111		1	1	110 +	( )		00			1111	(	
( 8	sz and	i name	HN	) (8	1 and	i name	HD^	) :	3.5 (	82	ana	name	HN	) (	(82
( 8	32 and	name	HN	) (8	3 and	1 name	HD*	) 5	5.0 (	82	and	name	HN	)	( 83
ì	2	1	TINT		2	a nomo	1 1 1	ί σ	- 0	0.2	and		TINT	í.	( 72
( 0	s and	i name	HIN	) ( /	z and	i name	пыт	) :	5.0 (	03	and	name	HIN	/ /	( /3
(8	33 and	l name	HN	) (8	1 and	l name	HD*	) 5	5.0 (	83	and	name	HN	) (	(82)
i o	2 and	a nomo	LINT	iio	2 220	a nomo	UD*	i -		02	and	n	LINT	ί.	1 02
( 0	bs and		пім	) ( 0	z and		пь	/ -	5.5	03	anu	Itallie	ПN	! !	03
( 8	33 and	i name	HN	) (8	3 and	1 name	HB*	) 3	3.5 (	83	and	name	HN	) (	(83)
( 9	2 and	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	LINI	) ( 9	3 200	1 namo	UF *	) 6	5 0 /	02	and	namo	LINI	1	0 9 4
			1111		J and		1115	( 2	5.0	05	and	manie	1111	( )	
( 8	33 and	i name	HN	) (8	4 and	i name	HN	) 5	5.0 (	83	and	name	HN	) (	(100)
( 8	l3 and	h name	HN	) (10	0 and	1 name	HB2	) 7	35 (	83	and	name	HN	)	(101)
		1	1111		0 4110	1	1102	( -		0.0	and	manic	1111	(	
( 8	sa anc	i name	HN	) ( 6	9 and	i name	HA	) :	5.0 (	84	ana	name	HN	) (	( 69
( 8	34 and	name	HN	) (7	0 and	1 name	HA	) 5	5.0 (	84	and	name	HN	)	(70
ìõ	1	1	TINT	, , , ,	0	]	TTD O	, - , -	- 0	01			TINT	ί.	( 71
( 8	sa anc	i name	HN	) ( /	0 and	i name	HBZ	) 5	5.0 (	84	ana	name	HN	) (	( / 1
( 8	34 and	l name	HN	) (7	1 and	l name	HD1*	) 5	5.0 (	84	and	name	HN	) (	(72)
i o	1 220	a nomo	LINT	, i 7	2 220	a nomo	LINT	, , E	= 0	01	and	n	LINT	ί.	1 02
( 0	and		пім	/ ( /	z and		LUN .	/ -	5.0	04	anu	Itallie	ПN	! !	03
( 8	34 and	i name	HN	) (8	3 and	i name	HB*	) :	3.5 (	84	and	name	HN	) (	(83
( 8	A and	name	HN	) ( 8	4 and	1 name	ЧΔ	) :	35 (	84	and	name	HN	)	6 84
			1110		1 and		IIA IIA	( 2		01	ana	manic	1111	(	
( 8	34 and	i name	HN	) (8	4 and	i name	HG2*	) 5	o.0 (	84	and	name	HN	) (	( 85
( 8	35 and	name	HN	) (8	4 and	1 name	HA	) 2	2.7 (	85	and	name	HN	)	( 84
ì		l nomo	TINT		1 0000	l nomo	110.0*			00	and	nomo	TINT	(	
( 8	os and	, name	піл	, ( 8	+ and	, name	nG∠^	1 2	<u>د.</u> (	85	and	name	ПIN	1	05
( 8	35 and	l name	HN	) (8	5 and	l name	HB1	) 3	3.5 (	85	and	name	HN	) (	( 85
ìg	25 and	name	UN	, i a	5 200	namo	uр1*	ί F	5 0	85	and	namo	UN	í.	0 85
, .			1111	, , 0	5 and	, 11aiiie		( -				manie	1111	(	, 00
(8)	ss and	name	HN	) (9	8 and	ı name	нВ	) 3	5.5 (	85	and	name	HN	) (	(98
( 8	35 and	name	HN	) ( 9	9 and	] name	НА	) -	3.5 /	85	and	name	HN	)	( 99
		a manie	TINT	, , , ,	0	a nome	110.4	( 7		0	0	neme	TINT	(	100
(8	s and	, name	HIN	) (IO	u and	, name	нр,	1 5	5.U (	85	and	name	HIN	)	ιτυυ
( 8	36 and	l name	HN	) ( 6	9 and	l name	HA	) [	5.0 /	86	and	name	HN	)	( 69
ì	6 ~~~~	1 nome	LINI		E am	l nom-	LI 7	1 -		00	2000	nome	LINI	1	
( 8	o and	, name	піл	, ( 8	o and	, name	пА	1 -	J.J (	80	and	name	ПIN	1	05
( 8	36 and	l name	HN	) (8	5 and	d name	HN	) 5	5.0 (	86	and	name	HN	)	(86
ìõ	6 200	1 name	UN .	$\dot{i}$	6 22	l nomo	uп1*	j	5 0	06	and	namo	LIN	í.	iõc
( 8	o anc	, name	1111	, , 8	o allo	, manne	прт	, =		00	and	maille	LIIN	! !	00
(8	36 and	i name	HN	) (8	6 and	1 name	HG12	) 3	3.5 (	86	and	name	HN	)	(86
įõ	16 and	name	HN	) i o	7 200	1 namo	ЧА	) 6	50	86	and	name	HN	j.	( 91
, 0		, maille	1111	, , 0	, and	, maille	1112	( -		00	-	maille	1111	(	
(8)	37 and	1 name	HN	) (6	/ and	1 name	HA	) 5	5.U (	87	and	name	HN	) (	(67
( 8	37 and	l name	HN	) ( 6	8 and	l name	HB*	) 7	3.5 (	87	and	name	HN	)	( 68
ìõ	07	l norre	LINT	, i c	0	1 22-2	LI 7	í -		07	~~~~	nor	LINT	í	1 60
6	anc	, name		, ( 6	🤊 and	, name	пА	1 5	(	8/	and	name	LIN	!!	609
(8)	37 and	i name	HN	) (8	5 and	i name	HA	) 5	5.0 (	87	and	name	HN	)	(85
( 0	17 and	h name	HN	) ( 0	5 200	namo	HC	) [	50	Q7	and	name	HN	)	( 86
, 0		, maille	1111	, , 0	5 and	, maille	11.5	( -		07	-	maille	1111	(	, 00
(8	s'/ and	1 name	HN	) (8	ь and	1 name	НB	) 5	5.U (	87	and	name	HN	) (	(86
( 8	37 and	l name	HN	) ( 8	6 and	l name	HG11	) 5	5.0	87	and	name	HN	)	( 86
$\hat{i}$			TINT	, , 0	6		1100+	( -		07			TINT	{	
( 8	anc	, name	піл	, ( 8	o and	, name	nG∠^	1 5	J.U (	8/	and	name	ПIN	1	00
(8)	37 and	i name	HN	) (8	7 and	i name	HA	) 3	3.5 (	87	and	name	HN	) (	(87
( 0	17 and	h name	HN	) ( 0	7 and	namo	ив 2	) -	35	27	and	namo	HN	3	( 27
			1111	( ) <u>°</u>	, ail	, maine	1102	( -		07	and	manie	1111	( '	01
(8)	s/ and	name	HN	) (8	/ and	ı name	HG2	) 5	5.U (	87	and	name	HN	) (	(88)
( 2	37 and	name	HN	) ( 0	1 an/	] name	HD1*	) :	3.5 /	87	and	name	HN	)	( 91
	, and		TINT		7		117	( -				nanie	TINT	(	
(8	oo anc	, name	HIN	) (6	/ and	, name	нА	1 5	5.U (	88	and	name	HIN	)	67
( 8	38 and	l name	HN	) ( 6	8 and	l name	HN	) [	5.0 /	88	and	name	HN	)	(85
ì	0 ~~~~	1 nome	LINI		7 ~~~	l nom-	117	1 2		00	2000	nome	LINI	1	07
( 8	o anc	, name	LTIN .	, , 8	/ all	, manne	na -	/ 4	<u></u> (	00	and	maille	LIIN	! !	0/
(8	88 and	i name	HN	) (8	7 and	1 name	HB2	) 5	5.0 (	88	and	name	HN	)	(87
, 0	20	1 nome	UN	) i o	7	1 nome	uс 2	5	2 5	0.0	222	nome	LINT	5	00
6	o anc	, name		, ( 8	/ and	, name	пGZ	1 -		88	and	name	LIN	!!	00
(8)	88 and	i name	HN	) (8	8 and	i name	HA2	) 3	3.5 (	88	and	name	HN	)	(91
( 0	18 and	name	HN	) ( 0	1 200	1 namo	HD1*	) -	35	2 Q Q	and	name	HN	)	( 91
	0		1111	( ) -			112	( -				manic	1117	( )	) 21
1 8	sy and	name	HN	) (6	/ and	ı name	HA	) 5	5.U (	89	and	name	HN	) (	( 67

( 8	29	and	name	HN	)	(	88	and	name	нд1	)	35	(	89	and	name	HN	)	( 88	and	name	НД2	) 35
i	20	and	nomo	LINT	Ś	ì	00	and	nomo	UNT	{	5.0	ì	00	and	nomo	LINT	ί.		and	nomo	U7	) 2.5
	22	anu	name	TIN	(		00	anu	Itallie	HIN TID 1	(	5.0	(	09	anu	Itallie	HIN	(		anu	name	ПА	) 3.5
( 8	39	and	name	HN	)	(	89	and	name	HBI	)	3.5	(	89	and	name	HN	)	(89	and	name	HB2	) 3.5
( 8	39	and	name	HN	)	(	90	and	name	HB*	)	5.0	(	89	and	name	HN	)	(90	and	name	HN	) 5.0
í e	39	and	name	HN	j	Ì	91	and	name	HN	)	5.0	i	90	and	name	HN	)	( 89	and	name	НА	5.0
ì	50	and	nomo	TINT	Ś	ì	00	and	nomo	1101	ś	E 0	ì	00	and	nomo	TINT	ś		and	nomo	117	) 2.0
( )	90	and	Indille	HIN	)	Ś	09	and	name	пы	!	5.0	(	90	and	name	HIN	!	( 90	ana	Itallie	HA	) 3.5
( 9	90	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	90	and	name	HB*	)	3.5	(	90	and	name	HN	)	(91	and	name	HN	) 5.0
( 9	91	and	name	HN	)	(	88	and	name	HN	)	5.0	(	91	and	name	HN	)	(89)	and	name	HA	) 5.0
ì	21	and	nomo	LINT	Ś	ì	00	and	nomo	117	ś	2 5	ì	01	and	namo	LINT	ś		and	nomo		) 2.5
( 2	21	anu	name	TIN	,		90	anu	name	пА	!	5.5	(	91	anu	Italle	FIIN	!		anu	name	пв	) 3.5
( 9	91	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	91	and	name	HA	)	3.5	(	91	and	name	HN	)	(91	and	name	HB1	) 2.7
( 9	91	and	name	HN	)	(	91	and	name	HB2	)	3.5	(	91	and	name	HN	)	(91	and	name	HD1*	) 5.0
ìc	1	and	nomo	LINT	Ń	ì	01	and	nomo	UD2*	Ń	5 0	ì	01	and	nomo	LINT	Ń	01	and	nomo	чС	1 2 7
( 3	21	anu	Italle	TIN		Ş	91	and	Italle	HDZ ~	?	5.0	,	21	anu	name	LUN	!		anu	Italle	нG	/ 2./
( 5	۶T	and	name	ΗN	)	(	92	and	name	HA*	)	5.0	(	91	and	name	HN	)	(92	and	name	HN	) 3.5
( 9	91	and	name	HN	)	(	95	and	name	HB1	)	5.0	(	92	and	name	HN	)	(89	and	name	HA	) 5.0
ic	22	and	namo	LINT	í.	ì	90	and	namo	UD *	í.	5 0	i	92	and	namo	UN	í.	<i>i</i> 01	and	namo	uл	1 3 5
2	20	ana	manic	1111		)	01	and	manic	IID IID 1	(	5.0	)	22	ana	manic	1110	{		and	manic	1172	, 5.5
( 5	92	and	name	HIN	)	(	91	and	name	HBI	)	5.0	(	92	and	name	HIN	)	(91	and	name	нви	) 5.0
( 9	92	and	name	HN	)	(	91	and	name	HD1*	)	5.0	(	92	and	name	HN	)	(91	and	name	HD2*	) 5.0
( 0	32	and	name	HN	)	(	91	and	name	HG	)	5 0	í	92	and	name	HN	)	( 92	and	name	НД*	) 27
ì	20			TINT		ì	02			TINT	~	г. о	ì	00			TINT	ί.				1101+	, <u> </u>
( )	24	ana	Italle	HIN	)	(	95	ana	Italle	HIN	/	5.0	(	92	ana	name	HIN	)	( 95	ana	Italle	HDI "	) 5.0
( 9	93	and	name	HN	)	(	92	and	name	HA*	)	3.5	(	93	and	name	HN	)	(93	and	name	HA	) 3.5
( 9	94	and	name	HN	)	(	92	and	name	HA*	)	5.0	(	94	and	name	HN	)	( 92	and	name	HN	) 5.0
ìc	24	and	namo	LINT	í	ì	03	and	namo	uλ	í.	3 5	ì	94	and	name	UN	í	1 93	and	namo	UD *	5 0
		and	manie	1111	(	Ś	25	anu	manie	1174	(	5.5	,	21	anu	manie	1110	(		anu	manie	IID	) 5.0
( 5	94	anα	name	ΗN	)	(	94	ana	name	HA	)	3.5	(	94	ana	name	HN	)	(94	ana	name	нв	) 5.0
( 9	94	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	94	and	name	HG2*	)	3.5	(	94	and	name	HN	)	(95	and	name	HB1	) 5.0
( 0	95	and	name	HN	)	Ċ	91	and	name	HA	)	5.0	Ĺ	95	and	name	HN	)	(91	and	name	HD2*	) 5.0
ìõ	35	and	name	UNT		ì	01	and	name	цл	ś	2 5	2	05	and	name	UN	í		and	name	UD	) 5.0
1 -	20	ana	naille	111N	)	- (	24	and	naille	пA	/	3.5	(	20 0-	and	naille	1111	/	( <del>74</del>	and	naille	пĎ	, 5.0
( 9	15	and	name	HN	)	(	94	and	name	ΗN	)	3.5	(	95	and	name	ΗN	)	(95	and	name	ĤА	) 3.5
( 9	95	and	name	HN	)	(	95	and	name	HB1	)	3.5	(	95	and	name	HN	)	(95	and	name	HB2	) 5.0
ì	35	and	name	нм	Ś	ì	95	and	name	но <sup>1</sup> *	í	5 0	ì	95	and	name	HN	í	05	and	name	нр2*	) 5 0
, ,		unu ,	manie	1111	(	ļ	20	Jun	maille	TTD T	(	2.0	,	20	und	manie	111N	(		Junu	manie	1102	, 5.0
( 9	15	and	name	ΗN	)	(	95	and	name	НG	)	3.5	(	96	and	name	HN	)	( 91	and	name	HD2*	) 5.0
( 9	96	and	name	HN	)	(	95	and	name	HA	)	2.7	(	96	and	name	HN	)	(95	and	name	HB1	) 5.0
( 0	96	and	name	HN	,	i	95	and	name	HB2	)	35	i	96	and	name	HN	)	( 95	and	name	HD1*	) 5 0
ì	a e	and	nome	LINT	(	)	05	and	nome	UD0*	1	2.5	>	õe	and	name	UN	1		and	nome	UN	, 5.0
1,2	20	ana	name	ПIN	)	(	95	and	name	п∪∠^	/	3.5	(	30	and	name	LIIN	1	95	ana	name		, 5.0
( 9	16	and	name	HN	)	(	96	and	name	HA	)	3.5	(	96	and	name	HN	)	(96	and	name	HB1	) 5.0
( 9	96	and	name	HN	)	(	96	and	name	HB2	)	2.7	(	96	and	name	HN	)	(96	and	name	HG*	) 5.0
ì	ĥ	and	nomo	TINT	Ś	ì	07	and	nomo	TINT	ś	2 7	ì	0 C	and	nomo	TINT	ś	(101	and	nomo	110	) E 0
( )	90	and	Inallie	HIN	)	Ś	91	and	name	HIN	!	2.1	(	90	and	name	HIN	!		ana	Itallie	пві	) 5.0
( 9	96	and	name	HN	)	(	121	and	name	HB2	)	5.0	(	96	and	name	HN	)	(122	and	name	HA	) 3.5
( 9	96	and	name	HN	)	(	123	and	name	HN	)	5.0	(	97	and	name	HN	)	(95	and	name	HA	) 5.0
ì	7	and	nomo	LINT	Ń	ì	06	and	nomo	117	ś	2 5	ì	07	and	namo	LINT	ś	06	and	n 0 m 0	UD1	) E O
( )	91	and	Inallie	HIN	)	Ś	90	and	name	HA	!	3.5	(	97	and	name	HIN	!	( 90	ana	Itallie	пві	) 5.0
( 9	9.1	and	name	HN	)	(	96	and	name	HB2	)	3.5	(	97	and	name	HN	)	(96	and	name	HG*	) 5.0
( 9	97	and	name	HN	)	(	97	and	name	HA	)	3.5	(	97	and	name	HN	)	(97	and	name	HB1	) 5.0
ìc	7	and	name	HN	í	ì	97	and	name	HB2	ś	5 0	ì	97	and	name	HN	í	07	and	name	HG1	ý <u>5</u> 0
		and	manie	1111	(	Ś	27	anu	manie	1102	(	5.0	,	27	anu	manie	1110	(		anu	manie	IIG1	) 5.0
( 5	91	ana	name	ΗN	)	(	97	ana	name	HGZ	)	5.0	(	97	ana	name	HN	)	( 98	ana	name	HD1 ^	) 5.0
( 9	97	and	name	HN	)	(	121	and	name	HA	)	5.0	(	97	and	name	HN	)	(121	and	name	HB1	) 3.5
( )	97	and	name	HN	)	(	121	and	name	HB2	)	3.5	í	97	and	name	HN	)	(121)	and	name	HD2	) 5.0
ì	, , , ,	and	nomo	TINT		ì	100	and	nomo	1102	{	5.5 E 0	ì	00	and	name	TINT	{	( 1 2 1	and	nomo	1102	) 5.0
( )	91	ana	Inallie	ПN	)	(	122	ana	name	пА	)	5.0	(	90	ana	name	HIN	/	( 04	ana	Itallie	на	) 5.0
( 9	98	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	84	and	name	HG2*	)	3.5	(	98	and	name	HN	)	(85	and	name	HA	) 5.0
( 9	98	and	name	HN	)	(	85	and	name	HB2	)	5.0	(	98	and	name	HN	)	( 85	and	name	HN	) 3.5
ìò	20	and	namo	LIN	Ń	ì	91	and	name	דם <u>ו</u> *	ś	5 0	ì	98	and	namo	UN	í	( 01	and	name	uп2*	) <u>5</u> 0
	20	anu	name	TIN	(	Ş	21	anu	Itallie	HDI	(	5.0	(	90	anu	Italle	FIIN	(		anu	name	HDZ	) 5.0
( 5	98	and	name	ΗN	)	(	97	and	name	HA	)	2.7	(	98	and	name	HN	)	( 97	and	name	HBT	) 3.5
( 9	98	and	name	HN	)	(	97	and	name	HB2	)	5.0	(	98	and	name	HN	)	(97	and	name	HG*	) 5.0
ic	R	and	name	HN	j.	ì	97	and	name	HN	í.	5 0	i	98	and	name	HN	í.	, 98	and	name	ЧΔ	, , , , ,
	20	and	manic	TINT	(	)	00	and	manic	IIIN	{	2.0	,	00	and	manic	TINT	{		and	manic		, 5.5
( )	20	ana	Indille	ПN	)	(	90	ana	name	пв	)	3.5	(	90	ana	name	HIN	/	( 90	ana	Itallie	HD1 "	) 5.0
( 9	98	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	98	and	name	HG12	)	5.0	(	98	and	name	HN	)	(98	and	name	HG2*	) 5.0
( 9	99	and	name	HN	)	(	84	and	name	HA	)	5.0	(	99	and	name	HN	)	( 98	and	name	HA	) 2.7
ì	20	and	nomo	LINT	Ń	ì	0.0	and	nomo	UD	ś	5 0	ì	00	and	namo	LINT	ś	00	and	n 0 m 0	1 *	) <u> </u>
	22	anu	name	TIN	(	Ş	90	anu	Itallie		(	5.0	(	22	anu	Italle	FIIN	(		anu	name	HDI	) 5.0
( 5	99	ana	name	ΗN	)	(	98	ana	name	HGIZ	)	5.0	(	99	ana	name	HN	)	( 98	ana	name	HGZ^	) 2.7
( 9	99	and	name	HN	)	(	98	and	name	HN	)	5.0	(	99	and	name	HN	)	(99	and	name	HA	) 3.5
( 9	99	and	name	HN	)	(	99	and	name	HB1	)	3.5	(	99	and	name	HN	)	( 99	and	name	HB2	) 3.5
ì	20	and	name	UNT		ì	110	and	name	<u>шл</u>	ś	5 0	ì	00	and	nome	UN	í	(110	and	name	UD1	) 2.5
	22	anu	name	TIN	(	Ş	119	anu	Itallie	ПА	(	5.0	(	22	anu	Italle	FIIN	(		anu	name	пы	) 3.5
( )	99	and	name	ΗN	)	(	тт9	and	name	нв∠	)	5.U	(	99	and	name	HIN	)	(119	and	name	HIN	1 3.5
( 9	99	and	name	HN	)	(	120	and	name	HA	)	5.0	(	99	and	name	HN	)	(121	and	name	HD2	) 3.5
(10	00	and	name	ΗN	)	Ċ	83	and	name	HD*	)	5.0	Ċ	100	and	name	HN	)	(83	and	name	HN	) 3.5
110	้าก	and	name	ци		ì	Q /	and	name	нл	í	3 5	1	100	and	namo	HN	í	( Q /	and	name	цсэ*	) 5.0
(1)	50	and	manie	1111	(	ļ	04	and	manne	1171	(	5.5		100	and	manne	1111	{	( 04	and	manne	1192	, 5.0
(10	JÜ	and	name	ΗN	)	(	85	and	name	HN	)	5.0	( )	τ00	and	name	HN	)	( 99	and	name	HА	) 2.7
(10	00	and	name	HN	)	(	99	and	name	HB1	)	5.0	( )	100	and	name	HN	)	(99	and	name	HB2	) 3.5
(10	າດ	and	name	HN	ń	ì	100	and	name	НА	)	35	Ċ	100	and	name	HN	)	(100)	and	name	HB1	) 25
(10	n n	and	nome	LINT		)	100	222	nome	цр)	í	2.5		100	222	nome	UNT	í	(100	and	nome	UD*	, J.J \ 2 -
(IL	10	and	nalle	ПIN	)	- (	TUU	and	naille	пь∠	1	5.5	(	100	and	nalle	LIIN	1	(TOO	and	nalle	пD.,	1 3.5
(10	70	and	name	HN	)	(	101	and	name	ΉN	)	5.0	( )	101	and	name	HN	)	(82	and	name	ĤΑ	) 5.0
(10	01	and	name	HN	)	(	83	and	name	HN	)	5.0	(	101	and	name	HN	)	(100	and	name	HA	) 2.7
(10	<u>ה ר</u>	and	name	ЦM	Ś	ì	100	and	name	HB1	í	3 5	ì	101	and	name	HN	í	(100	and	name	ив 2	) 5 0
(1)	ノエ ココ	0	manie	עדד ד ביני ב	(	)	100	0	name		{	2.5		101	and	naille	111N T T N T	{	(100	0	manie		,
(1(	JΤ	and	name	ΗN	)	(	TUU	and	name	нр *	)	3.5	( .	τυτ	and	name	HIN	)	(TOT	and	name	HА	1 3.5
(10	01	and	name	HN	)	(	101	and	name	HB1	)	3.5	()	101	and	name	HN	)	(101	and	name	HB2	) 3.5
(1)	01	and	name	HN	j	i	101	and	name	HG*	)	5.0	Ċ	101	and	name	HN	)	(117)	and	name	HB	) 5.0
110	11	and	nome	LINT		)	117	222	nome	uC2*	í	5 0		101	222	nome	UNT	í	(110	and	nome	цл	) 2.0
	) T	and	nalle		)	- [	11/ 2	and	maille	ngz	(	5.0	, j	1 O T	and	maille	1111	/	( + + 0	and	nalle	пн	, 3.5
(10	12	and	name	HN	)	(	80	and	name	HА	)	5.0	( )	102	and	name	HN	)	(82	and	name	HA	) 3.5
(10	2	and	name	HN	)	(	101	and	name	HA	)	2.7	(	102	and	name	HN	)	(101	and	name	HA	) 2.7
(10	12	and	name	нм	Ń	ì	101	and	name	HB1	)	5 0	i	102	and	name	HN	)	(101	and	name	HR2	) 5 0
(10	้าว	22-7	norre	LITAL	(	;	101	22-2	nor	102	{	5.0		100	22-2	nor	LINT	{	(101	22-7	nore	UNT	, 5.0
(IC	12	ana	name	ПN	)	(	TOT	and	name	пGZ	/	J.U	(	TUZ	and	name	LIIN	1	(TOT	ana	name		, 5.0
(10	12	and	name	HN	)	(	102	and	name	ĤΑ	)	3.5	( )	102	and	name	HN	)	(102	and	name	ΉB	) 3.5
(10)	2	and	name	HN	)	(	102	and	name	HG2*	)	5.0	(	103	and	name	HN	)	(102	and	name	HA	) 2.7
(10	זר	and	name	HM	ń	ì	102	and	name	HR	j	5 0	ì	103	and	name	HN	j	(102	and	name	HG2*	) 2 5
(10	, , , ,	22-7	norre	LIN	(	;	102	222	nore	112	1	2.0		100	222	norre	LINT	{	(102	222	norre	1102 UD*	, J.J \ 7 -
(IC	13	ana	name	ПIN	)	(	103	and	name	пА	/	3.5	(	103	and	name	TIN	1	(103	ana	name	пв"	1 3.5
(10	٦3	and	name	HN	)	(	103	and	name	HG*	)	5.0	( )	103	and	name	HN	)	(104	and	name	HA	) 5.0
(10)	3	and	name	HN	)	(	104	and	name	HD1*	)	5.0	(	103	and	name	HN	)	(104	and	name	HG	) 5.0
(10	רו	and	name	HN	í	ì	104	and	name	HN	)	5 0	i	103	and	name	HN	)	(115	and	name	HB*	) 25
(10	22	22-7	nor	LIN	(		115	22-2	nor	uC*	1	5.0		100	22-2	nor	LINT	ί	(110	22-7	norre	цл	, J.J \ 7 -
( ) (		and	name	HIN	)	- (	115	and	name	нG^	)	5.0	(	103	and	name	HIN	)	( 1 1 0	and	name	пА	1 3.5
( + 0	13	-		HN	)	(	117	and	name	HN	)	5.0	()	104	and	name	HN	)	(79	and	name	HB2	) 3.5
(10	)3	and	name	TITA	,		± ± /																,
(10)	)3 )3 )4	and and	name name	HN	)	ì	80	and	name	HA	)	3.5	Ċ	104	and	name	HN	)	(80	and	name	HB1	) 5.0

(104 and name HN ) (103 and name HB2 ) 3.5 (104 and name HN ) (103 and name HB2 ) 3.5 (104 and name HN ) (104 and 104 and name HN ) (104 and 104 and name HN ) (104 and 104 and name HN ) (104 and name HB1 ) 3.5 (104 and name HN ) (104 and 104 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (104 and name HN ) (104 and 104 and name HN ) (104 and name HB1 ) 3.5 (104 and name HN ) (105 and 104 and name HN ) (105 and 105 and	d nome ID* ) E
(104 and name HN ) (103 and name HG* ) 3.5 (104 and name HN ) (104 and (104 and name HN ) (104 and name HB1 ) 3.5 (104 and name HN ) (104 and (104 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (104 and name HN ) (104 and (104 and name HN ) (104 and name HG ) 3.5 (104 and name HN ) (105 and (104 and name HN ) (105 and (104 and name HN ) (105 and (105	
(104 and name HN ) (103 and name HG ) 3.5 (104 and name HN ) (104 and 104 and name HN ) (104 and name HB ) $3.5$ (104 and name HN ) (104 and 104 and 105 and	
(104 and name HN ) (104 and name HB1 ) 3.5 (104 and name HN ) (104 and 104 an	id name HA ) 3.
(104 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (104 and name HN ) (104 and name HN ) (104 and name HG ) 3.5 (104 and name HN ) (105 and 105 and	d name HB2 ) 5.0
(104  and name HN) $(104  and name HG)$ $3.5$ $(104  and name HN)$ $(105  and  104  and name HN)$ $(105  and  104  and name HN)$ $(105  and  104  and  104$	d name UD2* ) 3
(104  and name HN) $(104  and name HG)$ 3.5 $(104  and name HN)$ $(105  and$	
	id name HG2* ) 5.0
(104  and name HN) $(105  and name HN)$ 5.0 $(105  and name HN)$ $(104  and name HN)$	d name HA ) 2.'
(105 and name HN ) (104 and name HP2 ) 2.5 (105 and name HN ) (104 ar	d name UD1 * ) 2 1
(105 and name mit ) (104 and name mbz ) 5.5 (105 and name mit ) (104 and	
(105  and name HN) $(104  and name HD2*)$ 5.0 $(105  and name HN)$ $(105  and$	id name HA ) 3.!
(105 and name HN) (105 and name HR) 3.5 (105 and name HN) (105 ar	d name HG1*) 5 (
(105  and name m) $(105  and name m)$	
(105 and name HN) (105 and name HG2*) 2.7 (105 and name HN) (112 and	id name HB* ) 5.0
(105 and name HN ) (113 and name HB ) 3.5 (105 and name HN ) (113 and	d name HG2* ) 5.(
(105  and normal IN) $(114  and normal IN)$ $(105  and normal IN)$ $(114  arg)$	d nome $U(2)$ $t$ ) E
(105 and name HN) (114 and name HA) 3.5 (105 and name HN) (114 and	id name HGZ* ) 5.0
(106 and name HN) (105 and name HA) 2.7 (106 and name HN) (105 and	id name HB ) 2.'
(106  and name HN) $(105  and name HG1*)$ 2.7 $(106  and name HN)$ $(105  are)$	d name HG2* ) 5 (
(100 and name inv ) (105 and name inst ) 2.7 (100 and name inv ) (105 and	
(106 and name HN ) (105 and name HN ) 5.0 (106 and name HN ) (106 an	id name HA ) 3.
$(106 \text{ and name HN})$ $(106 \text{ and name HB}^*)$ 2.7 $(106 \text{ and name HN})$ $(107 \text{ ar})$	d name HN ) 5.(
(100  and have  W) $(100  and have  W)$ $(100  and have  W)$ $(100  and have  W)$ $(110  and have  W)$	
(106 and name HN ) (112 and name HA ) 5.0 (106 and name HN ) (112 and	id name HB* ) 5.0
(106 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (107 and name HN ) (106 and	d name HA ) 2.'
(107  and name UN) $(106  and name UP + ) 2.5 (107  and name UN) (107  are)$	d name UN V 2
(107 and halle hit ) (106 and halle hit ) 3.5 (107 and halle hit ) (107 and	
(107 and name HN ) (107 and name HBL ) 5.0 (107 and name HN ) (107 and	id name HB2 ) 3.
(107  and name HN) $(110  and name HN)$ 5.0 $(107  and name HN)$ $(111  and name HN)$	d name HN ) 5.(
(107  and name IN) $(112  and name IN)$ $2 E (107  and name IN)$ $(112  ard name IN)$	d name IID* ) E
(107 and name HM ) (112 and name HA ) 5.5 (107 and name HM ) (112 and	
(107 and name HN ) (112 and name HN ) 5.0 (107 and name HN ) (113 and	d name HD1* ) 5.(
(107 and name HN) (113 and name HG11) 5.0 (110 and name HN) (106 ar	d name HB* ) 5 (
(10) and have $(11)$ and have $(11)$ $(11)$ and have $(11)$ $(11)$ and have $(11)$ $(10)$ and	
(IIU and name HN ) (IU/ and name HBI ) 5.0 (IIU and name HN ) (IU9 and	id name HA ) 3.
(110 and name HN ) (109 and name HB1 ) 5.0 (110 and name HN ) (109 and	d name HB2 ) 5.0
(110 and name $\mu_N$ ) (110 and name $\mu_{\lambda 1}$ ) 2.5 (110 and name $\mu_N$ ) (110 are	
(110 and name inv ) (110 and name fixer ) 5.5 (110 and name inv ) (110 an	
(IIU and name HN ) (III and name HAl ) 5.0 (110 and name HN ) (111 and	a name HN ) 3.!
(111 and name HN) (12 and name HA) 5.0 (111 and name HN) (107 ar	d name HB2 ) 50
(111  and name III) $(100  and name III)$ $(100  and name III)$ $(100  and name III)$ $(100  and name III)$	
(III and name HN ) (IU9 and name HA ) 5.0 (III and name HN ) (IU9 and	id name HB2 ) 5.0
(111 and name HN ) (110 and name HA1 ) 3.5 (111 and name HN ) (110 and	d name HA2 ) 3.
(111 and name $\mu_N$ ) (111 and name $\mu_N$ ) 2.5 (111 and name $\mu_N$ ) (111 are	d name UN2 ) 21
(11) and figure INV (11) and figure TAT (5.5 (11) did fidure HN) (111 di	иа паше пла / 3.
(112 and name HN) (10 and name HA) 5.0 (112 and name HN) (10 and	id name HB ) 5.(
(112  and name HN) (10 and name HG2*) 5.0 (112 and name HN) (11 ar	d name HA) 5 (
(112  and fame IIV) $(110  and fame II2)$ $(120  and fame IIV)$ $(110  and fame IIV)$ $(110  and fame IIV)$	
(112 and name HN) (11 and name HBI) 5.0 (112 and name HN) (11 and	id name HN ) 3.
(112 and name HN) (12 and name HA) 5.0 (112 and name HN) (106 and	d name HA ) 5.0
(112 and name HN ) (111 and name HAI ) 2.5 (112 and name HN ) (111 ar	d name UN2 ) 2'
(112 and name HN ) (111 and name HAI ) 5.5 (112 and name HN ) (111 and	Id Halle HAZ ) Z.
(112 and name HN ) (111 and name HN ) 5.0 (112 and name HN ) (112 and	id name HA ) 3.!
(112 and name HN ) (112 and name HB* ) 3.5 (112 and name HN ) (112 ar	d name HG ) 3
(112  and name m) $(112  and name m)$ $(122  and name m)$ $(112  and name m)$ $(112  and name m)$ $(112  and name m)$	
(112 and name HN ) (113 and name HA ) 5.0 (113 and name HN ) (10 an	id name HB ) 5.0
(113  and name HN) (10 and name HG2*) 5.0 (113 and name HN) (105 ar	d name HB ) 3.
(11) and name $M$ (10) and name $MO2^{+}$ (11) and name $M$ (10) and	
(113 and name HN ) (105 and name HG2 <sup>*</sup> ) 5.0 (113 and name HN ) (105 and	
(113 and name HN ) (106 and name HA ) 3.5 (113 and name HN ) (106 and	d name HN ) 5.0
(113 and name HN ) (107 and name HN ) 5.0 (113 and name HN ) (112 ar	d name UA ) 2'
(115 and name inv ) (107 and name inv ) 5.0 (115 and name inv ) (112 and	
(113 and name HN) (112 and name HB*) 3.5 (113 and name HN) (112 and	id name HG ) 5.0
(113  and name HN) $(112  and name HN)$ 5.0 $(113  and name HN)$ $(113  are HN)$	d name HA ) 3.
(112  and name III) $(112  and name III)$ $(112  and name III)$ $(112  and name III)$ $(112  and name III)$	d nome ID1* ) E
(113 and name HN) (113 and name HB) 2.7 (113 and name HN) (113 and	id name HDI* ) 5.0
(113 and name HN ) (113 and name HG11 ) 3.5 (113 and name HN ) (113 and	d name HG12 ) 3.!
(113 and name HN ) (113 and name HC2*) 5.0 (114 and name HN ) ( 8 ar	d name UN ) 5 (
(113 and name inv ) (115 and name inv ) (16 and iname inv ) (16 and	
	id name HA ) 3.
(114 and name HN) ( ) and name HN ) 3.5 (114 and name HN) ( 10 and	1 ····· · · ·
(114 and name HN) ( 9 and name HN) 3.5 (114 and name HN) ( 10 and ( 114 and name HN) ( 10 and ( 114 and name HN) ( 11 and ( 114 and name HN)) ( 114 and ( 114 and name HN)) ( 114 and	Id name HN ) 5.0
(114 and name HN) ( $9$ and name HN) ( $3.5$ ( $114$ and name HN)) ( $10$ ar. ( $114$ and name HN)) ( $10$ and name HG2*) $3.5$ ( $114$ and name HN)) ( $11$ and name HN)) ( $10$ and name HN)) ( $111$ and name HN)) ( $112$ and name HN)) ( $114$ and nam	Id name HN ) 5.0
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 and (114 and name HN ) ( 10 and (114 and name HN ) ( 11 and (114 and name HN ) ( 114 and name HN ) ( 113 and (114 and name HN ) ( 114 and (114 and name HN ) ( 114 and (114 and name HN ) ( 114 and (114 a	id name HN ) 5.0 id name HA ) 2.7
(114 and name HN ) ( ) and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 an (114 and name HN ) ( 104 and name HD1* ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 an (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 an	id name HN ) 5.0 id name HA ) 2.7 id name HG11 ) 5.0
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 an (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an	Id name HN ) 5.0 Id name HA ) 2.1 Id name HG11 ) 5.0
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 and (114 and name HN ) ( 10 and name HQ2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 and (114 and name HN ) ( 11 and (114 and name HN ) ( 113 and name HD1* ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and ( 114 and name HN ) ( 113 and ( 114 and (	id name HN ) 5.0 id name HA ) 2.0 id name HG11 ) 5.0 id name HG2* ) 2.0
(114 and name HN ) ( ) and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 an (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 and (114 and name HN ) (113 and name HN ) 5.0 (114 and name HN ) (114 and	id name HN ) 5.0 id name HA ) 2.0 id name HG11 ) 5.0 id name HG2* ) 2.0 id name HA ) 3.0
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HN ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HN ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar	Id name HN ) 5. Id name HA ) 2. Id name HG11 ) 5. Id name HG2* ) 2. Id name HA ) 3. Id name HD1* ) 3.
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ard (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ard (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ard	Id name HN     )     5.1       Id name HA     )     2.1       Id name HG11     )     5.1       Id name HG2*     )     2.1       Id name HG2*     )     3.1       Id name HA     )     3.1       Id name HD1*     )     3.5
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HN ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HN ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar	Id name HN       )       5.1         Id name HA       )       2.1         Id name HG11       )       5.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HA       )       3.1         Id name HA       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HD1*       )       5.1
(114 and name HN ) ( ) g and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 110 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 ( 114 and name HN ) ( 113 an (114 and name HN ) ( 104 and name HD1* ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 an ( 114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 an ( 114 and name HN ) ( 113 and name HG12 ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 an ( 114 and name HN ) ( 113 and name HG12 ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 an ( 114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 2.7 ( 114 and name HN ) ( 114 an ( 114 and name HN ) ( 114 and name HB ) 2.7 ( 114 and name HN ) ( 114 an ( 114 and name HN ) ( 114 and name HG2* ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 an	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HG12       )       5.0
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 ard name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar	Id name HN       )       5.1         Id name HA       )       2.1         Id name HG11       )       5.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HR*       )       3.2
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HS12       )       5.1         Id name HS1       )       3.2         Id name HS1       )       5.1         Id name HS1       )       5.1
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 and 114 and name HN ) (10 and 114 and 114 and 114 and 114 and 114 and 115 and 113 and 114 and 115 and 114 and	Id name HN       )       5.1         id name HA       )       2.1         id name HG11       )       5.1         id name HG2*       )       2.1         id name HG2*       )       3.1         id name HD1*       )       3.1         id name HG12       )       5.1         id name HG12       )       5.1         id name HG12       )       5.1         id name HB*       )       3.2         id name HB*       )       5.1         id name HG*       )       5.1
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 3.5 (115 and name HN ) (104 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HA       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HB*       )       3.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HA       )       3.1
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 an (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 an (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 an (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 an (114 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 an (114 and name HN ) (114 and name HG2*) 5.0 (114 and name HN ) (115 an (115 and name HN ) (102 and name HG2*) 5.0 (115 and name HN ) (103 an (115 and name HN ) (103 and name HN*) 3.5 (115 and name HN ) (104 an (115 and name HN ) (104 and name HD*) 5.0 (115 and name HN ) (104 an (115 and name HN ) (104 and name HD*) 5.0 (115 and name HN ) (104 an	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       2.1         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG11       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HS*       )       3.1         Id name HS*       )       3.1         Id name HC*       )       5.0         Id name HA       )       3.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HA       )       5.5
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 and 114 and name HN ) (110 and 114 and name HN ) (110 and 114 and name HN ) (113 and 114 and name HN ) (114 and 114 and name HN ) (114 and 114 and 114 and name HN ) (114 and 115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (114 and 115 and name HN ) (103 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 and 115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 and 115 and	Id name HN       )       5.0         id name HG11       )       5.0         id name HG2*       )       2.1         id name HG2*       )       3.1         id name HD1*       )       3.1         id name HD12       )       5.1         id name HB*       )       5.1         id name HG*       )       5.1         id name HG*       )       5.2         id name HG       )       5.2
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HA1       3.1         Id name HD1*       3.1         Id name HG12       5.1         Id name HG12       5.1         Id name HB*       3.1         Id name HG*       5.1         Id name HG*       3.1         Id name HG*       3.1         Id name HG*       5.1         Id name HG*       5.1         Id name HG       3.2         Id name HG       5.1         Id name HG       5.1         Id name HA       3.2
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 and (114 and name HN ) ( 10 and name HQ2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 and (114 and name HN ) ( 113 and (114 and name HN ) ( 114 and name HN ) ( 113 and (114 and name HN ) ( 114 and (114 and name HN ) ( 114 and (114 and name HN ) ( 114 and name HN ) ( 114 and (114 and name HN ) ( 114 and (114 and name HN ) ( 114 and name HN ) ( 114 and name HR ) ( 114 and name HG11 ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 and (114 and name HN ) ( 114 and name HG2* ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 and (115 and name HN ) ( 103 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 103 and name HD* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 104 and name HD1* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 105 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 105 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 104 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 104 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 104 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 104 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 104 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 104 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 114 and (115 and name HN ) ( 104 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 and (115 and name HN ) ( 114 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 and (115 and name HN ) ( 114 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 and (115 and name HN ) ( 114 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 and (115 and name HN ) ( 114 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 and (115 and name HN )	Id name HN       )       5.0         id name HG11       )       2.1         id name HG2*       )       3.1         id name HD1*       )       3.1         id name HD1*       )       3.1         id name HD1*       )       5.0         id name HB*       )       3.1         id name HB*       )       3.1         id name HC*       )       5.0         id name HC*       )       3.1         id name HC*       )       3.2         id name HC*       )       3.2         id name HC*       )       3.2         id name HG       )       5.0         id name HG1       )       5.0
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar)(114 ar)(114 ard name HB ) (115 and name HN ) (114 ar)(114 ard name HB ) (114 ard name HN ) (114 ar)(114 ar)(115 ard name HN ) (114 ard name HB ) (115 ard name HN ) (114 ar)(114 ar)(115 and name HN ) (114 ar)(115 ard nam	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG2*       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       3.2         Id name HG*       )       3.2         Id name HG       )       3.2         Id name HG       )       3.2         Id name HG       )       3.2         Id name HG11       )       3.2         Id name HG11       )       3.2
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 and (114 and name HN )) (10 and (114 and name HO )) (11 and (114 and name HN )) (113 and (114 and name HN )) (114 and name HB )) (114 and name HN )) (114 and (114 and name HN )) (114 and (114 and name HN )) (114 and name HG2*)) 5.0 (114 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (102 and name HG2*)) 5.0 (115 and name HN )) (103 and (115 and name HN )) (103 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (104 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (104 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (104 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (114 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (104 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (104 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (114 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (114 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (114 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (114 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (114 and name HO* )) (114 and name HN )) (114 and name HO* )) (115 and name HN )) (114 and name HO* )) (114 and name HN )) (11	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG1*       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HG12       )       5.0         Id name HB*       )       3.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       5.0         Id name HG       )       5.0         Id name HG       )       5.0         Id name HA       )       2.7         Id name HG1       )       5.0         Id name HG11       5.0         Id name HG22*       3.2
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 an (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HB2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG12       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HG*       )       3.1         Id name HG*       )       3.2         Id name HG*       )       3.2         Id name HG       )       5.1         Id name HG       )       3.2         Id name HG11       )       3.2         Id name HG2*       )
(114 and name HN ) ( ) g and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HG1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG1 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (110 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (103 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (104 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar) (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar)	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG2*       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HB1       )       3.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG       )       5.1         Id name HG       )       5.2         Id name HG1       )       5.2         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG2*       )       5.5
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 an (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG12       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       5.0         Id name HG       )       5.0         Id name HA       )       3.1         Id name HG       )       5.0         Id name HG       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       3.1         Id name HG2*       3.2         Id name HG2*       3.3         Id name HG2*       3.4         Id name HG2*       3.5         Id name HG2*       3.5         Id name HG2*       3.5         Id name HG2*       3.5
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 and (114 and name HN )) (10 and (114 and name HO)) (11 and (114 and name HN )) (113 and (114 and name HN )) (114 and (114 and name HN )) (113 and (114 and name HN )) (114 and name HB )) (114 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (115 and (115 and name HN )) (103 and name HG2* )) 5.0 (114 and name HN )) (103 and (115 and name HN )) (103 and name HO* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (114 and name HG2* )) 5.0 (115 and name HN )) (104 and (115 and name HN )) (114 and name HG2* )) 5.0 (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (114 and name HB )) 5.0 (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (114 and name HA )) (114 and (115 and name HN )) (114 and name HA )) (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (115 and name HA )) (115 and name HN )) (114 and (115 and name HN )) (115 and name HA )) (115 and name HN )) (115 and name HN )) (115 and name HA )) (115 and name HN )) (115 and name HN )) (115 and name HA )) (115 and name HN )) (115 and name HN )) (115 and name HA )) (115 and name HN )) (115 and name HA )) (115 and name HN )) (115 and name HN )) (115 and name HA )) (115 and name HN	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG2*       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HB1       )       5.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG       )       5.1         Id name HG       )       5.1         Id name HG       )       5.1         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG4*       )       5.1         Id name HA       )       5.1         Id name HA       )
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG1 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (103 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HB1*       )       3.2         Id name HB*       )       3.1         Id name HG4       )       5.1         Id name HG4       )       5.1         Id name HG4       )       5.2         Id name HG4       )       5.2         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG4       )       5.4         Id name HA       )       5.4         Id name HA       )       5.4         Id name HA       )
(114 and name HN ) ( ) g and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 and (11 an	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HA       )       3.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HB1*       )       3.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG*       )       3.1         Id name HG       )       5.1         Id name HG       )       5.2         Id name HG       )       5.2         Id name HG11       )       5.4         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG11       )       5.2         Id name HG1       )       5.4         Id name HQ1       )       5.4         Id name HQ1       )       5.4         Id name HQ1       )       <
(114 and name HN ) ( 10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (1102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (16 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (16 ard (116 and name HN ) (16 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (7 ar (116 and name HN ) (7 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (7 ar (116 and name HN ) (7 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (7 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG12       5.1         Id name HB1       3.1         Id name HG*       5.1         Id name HG*       5.1         Id name HG*       5.1         Id name HG       5.1         Id name HG       5.1         Id name HG11       5.1         Id name HG11       5.1         Id name HG2*       3.1         Id name HG2*       3.2         Id name HG2*       3.3         Id name HG2*       3.4         Id name HG4       5.1         Id name HG4       5.1         Id name HG4       5.1         Id name HG*       5.1         I
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (15 ar (116 and name HN ) (16 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (6 a ar (116 and name HN ) (7 ard name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (7 ar (116 and name HN ) (8 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (7 ar (116 and name HN ) (8 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (102 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG11       )       5.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG4       )       5.1         Id name HG4       )       3.2         Id name HG4       )       5.1         Id name HG4       )
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (128 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HG2* ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HD1*       )       3.1         Id name HB1       )       3.1         Id name HB*       )       5.1         Id name HB*       )       5.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG11       )       5.1         Id name HG11       )       5.1         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG*       )       5.1         Id name HA       )       3.2         Id name HA       )       5.1         Id name HA       ) <td< td=""></td<>
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (125 ar (116 and name HN ) (126 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (20 ar (116 and name HN ) (124 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (125 ar (116 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (11	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HG12       )       5.0         Id name HG*       )       3.1         Id name HG*       )       3.2         Id name HG11       )       3.1         Id name HG11       )       3.2         Id name HG11       )       3.2         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG4       )       5.0         Id name HG4       )
(114 and name HN ) ( 10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (126 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HG2* ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HG2* ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and na	Idd name HN       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.1         Idd name HD1*       )       3.1         Idd name HD12       )       5.1         Idd name HB*       )       3.1         Idd name HB*       )       5.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HG11       )       5.1         Idd name HG11       )       5.1         Idd name HG2*       )       3.1         Idd name HG1       )       5.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HA
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (110 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (124 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (115 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (115 and	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HG12       )       5.0         Id name HG*       )       3.1         Id name HA       )
(114 and name HN ) ( 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 and (11 and	Idd name HN       )       5.0         id name HG11       )       2.1         id name HG2*       )       2.1         id name HG2*       )       2.1         id name HG2*       )       2.1         id name HA       )       3.1         id name HD1*       )       3.1         id name HD1*       )       3.1         id name HB1       )       5.1         id name HG*       )       5.1         id name HG*       )       5.1         id name HG*       )       5.2         id name HG*       )       5.2         id name HG*       )       5.2         id name HG11       )       5.2         id name HG2*       )       3.2         id name HG1       )       5.2         id name HG4       )       5.2         id name HG4       )       5.4         id name HA       )       5.
(114 and name HN ) (10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (10 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (11 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (110 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HD1* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HB2 ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (114 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (114 and name HE* ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (115 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (120 ar (116 and name HN ) (115 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (115 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (115 an	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HG12       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HG*       )       3.1         Id name HG*       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG2*       )       5.0         Id name HG4*       )       5.0         Id name HG4*       )       5.0         Id name HG4       )       5.0         Id name HA       )
$ \begin{array}{c} 114 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 115 \\ 116 $	Id name HN       )       5.0         id name HG11       )       2.1         id name HG2*       )       2.1         id name HA       )       3.1         id name HD1*       )       3.1         id name HB1       )       3.1         id name HG*       )       5.1         id name HG*       )       5.1         id name HG*       )       5.1         id name HG*       )       5.2         id name HG*       )       5.2         id name HG11       )       5.2         id name HG11       )       5.2         id name HG2*       )       3.2         id name HG4       )       5.2         id name HG4       )       5.2         id name HA       )       5.
$ \begin{array}{c} 114 \\ 115 \\ 114 \\ 116 $	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.7         Id name HA       )       3.1         Id name HG12       )       5.0         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       5.0         Id name HG       )       5.0         Id name HG       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       3.1         Id name HG2*       3.2         Id name HG4       )       5.0         Id name HG4       )       5.0         Id name HA       )       5.0         Id name HB2       3.0         Id name HB2
$ \begin{array}{c} 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 114 \\ 115 \\ 114 \\ 114 \\ 115 \\ 114 \\ 111 \\ 114 \\ 111 $	Id name HN       )       5.0         id name HG11       )       2.1         id name HG2*       )       2.1         id name HA       )       3.1         id name HD1*       3.1         id name HD1*       3.1         id name HB*       )       3.1         id name HC*       )       5.1         id name HG*       )       5.1         id name HG*       )       5.2         id name HG*       )       5.2         id name HG*       )       5.2         id name HG11       )       5.2         id name HG2*       )       3.2         id name HG4       )       5.2         id name HG4       )       5.2         id name HA       )       5.2         id name HA       )       5.2         id name HB2       )       5.4
$ \begin{array}{c} 114 \\ 115 \\ 115 $	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HA       )       3.1         Id name HG12       5.0         Id name HB*       )       3.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       5.0         Id name HA       )       3.1         Id name HA       )       3.1         Id name HG       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       3.1         Id name HG4       5.0         Id name HG4       5.0         Id name HA       3.2         Id name HA       3.2         Id name HB2       5.0         Id name HB1
$ \begin{array}{c} 114 \\ 111 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1113 \\ 1114 \\ 1115 $	Idd name HN       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HA       )       3.1         Idd name HD1*       )       3.1         Idd name HG12       )       5.1         Idd name HB1*       )       3.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HG       )       5.2         Idd name HG1       )       3.2         Idd name HG1       )       3.2         Idd name HG2*       )       3.2         Idd name HG4*       )       5.2         Idd name HA       )       3.2         Idd name HA       )       3.2         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2       )       3.3         Idd name HB1
$ \begin{array}{c} 114 \\ 111 \\ 1111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111$	Id name HA       )       5.0         Id name HG11       )       5.0         Id name HG2*       )       2.1         Id name HG1       )       3.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HB*       )       3.2         Id name HG*       )       5.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG       )       5.1         Id name HG2       )       3.2         Id name HG2       )       3.2         Id name HG2*       )       3.2         Id name HG2*       )       5.1         Id name HA       )       5.2         Id name HA       )       5.2         Id name HA       )       3.2         Id name HB2       )       3.2         Id name HB2       )       3.2         Id name HB1       )       3.2         Id name HB1       )       3.2         Id name HB2       3.2
$ \begin{array}{c} 114 \\ 111 \\ 1111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111 \\ 111$	Idd name HN       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HA       )       3.1         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HB*       )       3.1         Idd name HG*       )       5.0         Idd name HG       )       5.0         Idd name HG11       )       3.1         Idd name HG11       )       3.1         Idd name HG2*       )       3.1         Idd name HG4       )       5.0         Idd name HG4       )       5.1         Idd name HG4       )       5.1         Idd name HA       )       5.1         Idd name HA       )       3.2         Idd name HA       )       3.2         Idd name HB2       )       3.1         Idd name HB1       )       5.1         Idd name HB1
$ \begin{array}{c} 114 \\ 111 \\ 1113 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1113 \\ 1114 \\ 1115 \\ 1114 \\ 1115 \\ 1114 \\ 1115 \\ 1114 \\ 1115 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1114 \\ 1115 \\ 1114 \\ 111$	Id name HN       )       5.0         Id name HG11       )       2.1         Id name HG2*       )       2.1         Id name HA       )       3.1         Id name HG12       )       5.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HB*       )       3.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG*       )       5.1         Id name HG*       )       3.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG2*       )       3.1         Id name HG4       )       5.1         Id name HA       )       3.2         Id name HB2       )       5.1         Id name HB1       )       3.2         Id name HB2       ) <td< td=""></td<>
$ \begin{array}{c} 114 and name HN \\ 1 (10 and name HQ2*) 3.5 (114 and name HN \\ 1 (114 and name HN \\ 1 (104 and name HQ2*) 3.5 (114 and name HN \\ 1 (113 ar (114 and name HN \\ 1 (113 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN \\ 1 (113 ar (114 and name HN \\ 1 (113 and name HB \\ 1 5.0 (114 and name HN \\ 1 (113 and name HB \\ 1 (114 and name HN \\ 1 (113 and name HB \\ 1 (114 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (114 and name HN \\ 1 (114 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (114 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (114 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (103 and name HG2* \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (103 and name HD* \\ 1 (103 and name HD* \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (103 and name HD1* \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (104 and name HD1* \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (105 and name HD1* \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (114 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (116 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (116 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (116 and name HB \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (116 and name HA \\ 1 (115 and name HN \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HA \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HA \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HA \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HA \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HA \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 and name HA \\ 1 (116 and name HN \\ 1 (116 a$	Idd name HA       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG*       )       3.1         Idd name HG*       )       3.1         Idd name HG*       )       3.1         Idd name HG       )       3.1         Idd name HG11       )       3.1         Idd name HG2*       )       3.1         Idd name HG2*       )       3.1         Idd name HG4       )       3.2         Idd name HA       )       3.2         Idd name HB2       )       3.1         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB1       )       3.2         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2 </td
$ \begin{array}{c} 114 and name HN \\ 110 and name HN \\ 110 and name HQ2 \\ 1114 and name HN \\ 111 and name HN \\ 1113 and name HQ2 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1114 and name HQ1 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1103 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1103 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1103 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1103 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1104 and name HN \\ 1103 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1104 and name HD1 \\ 115 and name HN \\ 1104 and name HQ1 \\ 115 and name HN \\ 1104 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1104 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 115 and name HN \\ 1115 and name HN \\ 1116 and name HN $	Idd name HN         )         5.0           Idd name HG11         )         5.0           Idd name HG2*         )         2.1           Idd name HG12         )         5.1           Idd name HG12         )         5.1           Idd name HG12         )         5.1           Idd name HG*         )         5.2           Idd name HG4         )         3.2           Idd name HG4         )         5.1           Idd name HG1         )         5.1           Idd name HG2*         )         3.2           Idd name HG2*         )         3.2           Idd name HG4         )         5.1           Idd name HA         )         3.2           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB1         )         3.2           Idd name HB2         )         5.1
$ \begin{array}{c} 114 and name HN \\ 110 and name HN \\ 10 and name HQ2* \\ 114 and name HN \\ 100 and name HQ2* \\ 114 and name HN \\ 1113 and name HQ1* \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1* \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ12 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ12 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ12 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ12 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ12 \\ 1114 and name HN \\ 1114 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1103 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1103 and name HD^* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HD1* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HD1* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2* \\ 15.0 \\ 1115 and name HN \\ 1115 and name HN \\ 1115 and name HN \\ 1116 and name HN \\ 1115 and name HN \\ 11$	Idd name HA       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG11       )       3.1         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG*       )       3.1         Idd name HG*       )       5.0         Idd name HG*       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       3.1         Idd name HG4*       )       5.0         Idd name HG4*       )       5.0         Idd name HA       )       5.0         Idd name HB2       )       5.0         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2       )       5.0         Idd name HB
$ \begin{array}{c} 114 and name HN \\ 110 and name HN \\ 110 and name HQ2 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ2 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1113 and name HQ1 \\ 1114 and name HN \\ 1114 and name HQ1 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1115 and name HN \\ 1115 and name HN \\ 1103 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1103 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1103 and name HD \\ 1115 and name HN \\ 1103 and name HD \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HD \\ 1115 and name HN \\ 1104 and name HD \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HD \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1114 and name HQ2 \\ 1115 and name HN \\ 1116 and name HN \\ 111$	Idd name HN         )         5.0           Idd name HG11         )         5.0           Idd name HG2*         )         2.1           Idd name HG12         )         5.1           Idd name HB1*         )         3.2           Idd name HB*         )         5.1           Idd name HB*         )         5.1           Idd name HG1         )         5.1           Idd name HG1         )         5.1           Idd name HG2*         )         3.2           Idd name HG1         )         5.1           Idd name HG2*         )         5.1           Idd name HG2*         )         5.1           Idd name HA         )         5.2           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB1         )         3.2           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB1         )         3.2
(114 and name HN ) ( ) 9 and name HN ) 5.5 (114 and name HN ) ( 10 ard (11 ard (114 and name HN )) ( 11 ard (114 and name HN )) ( 113 and name HD <sup>*</sup> ) 5.0 ( 114 and name HN )) ( 113 ard (114 and name HN )) ( 113 ard name HB ) 5.0 ( 114 and name HN )) ( 113 ard (114 and name HN )) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN )) ( 113 ard (114 and name HN )) ( 114 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN )) ( 114 ard (114 and name HN )) ( 114 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN )) ( 114 ard (114 and name HN )) ( 114 and name HB ) 2.7 ( 114 and name HN )) ( 114 ard (114 and name HN )) ( 114 and name HB ) 2.7 ( 114 and name HN )) ( 114 ard (114 and name HN )) ( 114 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN )) ( 114 ard (114 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN )) ( 115 ard name HN )) ( 103 and name HG2* ) 5.0 ( 115 and name HN )) ( 103 ard (115 and name HN )) ( 103 ard name HD <sup>*</sup> ) 5.0 ( 115 and name HN )) ( 104 ard (115 and name HN )) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 ard name HN )) ( 114 ard (115 ard name HN )) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 ard name HN )) ( 114 ard (115 ard name HN )) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 ard name HN )) ( 114 ard (115 ard name HN )) ( 115 ard name HB ) 3.5 ( 115 ard name HN )) ( 114 ard (115 ard name HN )) ( 115 ard name HB ) 3.5 ( 115 ard name HN )) ( 115 ard name HB ) 3.5 ( 115 ard name HN )) ( 115 ard name HB ) 3.5 ( 116 ard name HN )) ( 115 ard name HB ) 3.5 ( 116 ard name HN )) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 116 ard name HN )) ( 120 ard (116 ard name HN )) ( 120 ard (116 ard name HN )) ( 116 ard name HB ) 3.5 ( 116 ard name HN )) ( 120 ard (116 ard name HN )) ( 116 ard name HB ) 3.5 ( 116 ard name HN )) ( 120 ard (116 ard name HN )) ( 121 ard name HB ) 3.5 ( 116 ard name HN )) ( 121 ard (127	Idd name HA       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG12       )       2.7         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG1       )       3.1         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG1       )       3.1         Idd name HG*       )       5.0         Idd name HG       )       3.1         Idd name HG       )       5.0         Idd name HG1       )       3.1         Idd name HG1       )       3.1         Idd name HG2       )       3.1         Idd name HG2       )       3.1         Idd name HG2       )       5.0         Idd name HG3       )       3.1         Idd name HA       )       5.1         Idd name HB2       )       3.1         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2       )       5.1         Idd name HB2
(114 and name HN ) ( ) 9 and name HN ) 5.5 (114 and name HN ) (110 ar (114 and name HN ) (104 and name H2*) 3.5 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name H2*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG11 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2*) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (1102 and name HG2*) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (102 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (115 and name HA ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (115 and name HA ) 5.0 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (115 and name HA ) 5.0 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (116 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and	Idd name HN         )         5.0           Idd name HG11         )         5.0           Idd name HG2*         )         2.1           Idd name HG12         )         5.1           Idd name HB1*         )         3.2           Idd name HB*         )         5.1           Idd name HB*         )         5.1           Idd name HG1         )         5.1           Idd name HG1         )         5.1           Idd name HG1         )         5.1           Idd name HG2*         )         3.1           Idd name HG2*         )         3.1           Idd name HG2*         )         5.1           Idd name HA         )         5.1           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB1         )         5.2           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB1         )         5.2
(114 and name HN ) ( ) g and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HG2* ) 3.5 (114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) (113 and name HD1* ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (103 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (126 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (126 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (115 and name HA ) 3.5 (116 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 3.5 (116 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 3.5 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 3.5 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 3.5 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HB ) 3.5 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN )	Idd name HA       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG12       )       2.7         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG11       )       3.1         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG4       )       3.2         Idd name HG4       )       3.1         Idd name HG4       )       3.1         Idd name HG4       )       3.2         Idd name HG4       )       3.1         Idd name HA       )       3.2         Idd name HB1       )       3.1         Idd name HB2       )       3.2         Idd name HB2
(114 and name HN ) ( ) 9 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) (110 ar (114 and name HN ) (10 and name HG2*) 3.5 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (104 and name HD1*) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HG12) 5.0 (114 and name HN ) (113 ar (114 and name HN ) (113 and name HB ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HB ) 2.7 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG12 ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (114 and name HN ) (114 and name HG2* ) 5.0 (114 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (110 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (102 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (103 ar (115 and name HN ) (103 and name HD* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (104 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (105 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (104 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2* ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (114 ar (115 and name HN ) (115 and name HG2 ) 5.0 (115 and name HN ) (115 ar (115 and name HN ) (116 and name HG2 ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (116 and name HA ) 5.0 (116 and name HN ) (115 ar (116 and name HN ) (114 and name HE2 ) 5.0 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (115 and name HE ) 5.0 (116 and name HN ) (102 ar (116 and name HN ) (116 and name HE ) 5.0 (116 and name HN ) (101 ar (117 and name HN ) (116 and name HE ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HE ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HE ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN ) (116 and name HE ) 5.0 (117 and name HN ) (116 ar (117 and name HN	Idd name HN         )         5.0           Idd name HG11         )         5.0           Idd name HG2*         )         2.1           Idd name HG11         )         5.0           Idd name HG2*         )         2.1           Idd name HG2*         )         2.1           Idd name HG12         )         3.1           Idd name HD1*         )         3.1           Idd name HB1         )         3.1           Idd name HB*         )         3.1           Idd name HG*         )         5.1           Idd name HG*         )         5.1           Idd name HG*         )         5.1           Idd name HG11         )         5.1           Idd name HG11         )         5.1           Idd name HG2*         )         3.1           Idd name HG2*         )         5.1           Idd name HA         )         5.1           Idd name HA         )         5.1           Idd name HA         )         3.2           Idd name HA         )         3.2           Idd name HB2         )         5.1           Idd name HB1         )         5.1
(114 and name HN ) ( 10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HO $^{1}$ ) 3.5 (114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HD $^{1}$ ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HO $^{1}$ ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 and name HO $^{1}$ ) ( 114 and name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 and name HO $^{1}$ ) ( 114 and name HN ) ( 114 and name HO $^{1}$ ) ( 115 and name HN ) ( 103 and name HO $^{2}$ ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 103 ar (115 and name HN ) ( 103 and name HN $^{1}$ ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 104 and name HO $^{2}$ ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 104 and name HO $^{2}$ ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 114 and name HG $^{2}$ ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 114 and name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 114 ard name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 115 and name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 115 ar (115 and name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 115 ar (115 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ar (117 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ar (117 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ar (117 and name HN	Idd name HA       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.7         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HG*       )       3.1         Idd name HG*       )       5.0         Idd name HG       )       3.1         Idd name HG       )       5.0         Idd name HG11       )       3.1         Idd name HG1       )       3.1         Idd name HG2*       )       5.0         Idd name HG4       )       5.0         Idd name HA       )       3.1         Idd name HB1       )       5.0         Idd name HB2       )       5.0         Idd name HB2       )       5.0         Idd name HB2
(114 and name HN ) ( 10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 10 ard name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) ( 104 and name HD <sup>*</sup> ) 5.0 (114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 and name HN ) ( 114 and name HN ) ( 115 and name HN ) ( 103 and name HO <sup>2*</sup> ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 103 ar (115 and name HN ) ( 103 and name HD <sup>*</sup> ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 104 and name HD <sup>*</sup> ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 104 ard name HC <sup>2*</sup> ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 114 and name HC <sup>2*</sup> ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 114 ard name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 115 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ard name HN ) ( 116 ard name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ard name HB ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ard name HB ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ard name HB ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 ard name HA ) 3.	Idd name HA       )       5.0         Idd name HG11       )       5.0         Idd name HG2*       )       2.1         Idd name HG2*       )       2.1         Idd name HG2*       )       2.1         Idd name HG12       )       5.0         Idd name HD1*       )       3.1         Idd name HD1*       )       3.1         Idd name HB1       )       5.1         Idd name HG*       )       5.1         Idd name HG11       )       5.1         Idd name HG2*       )       3.1         Idd name HG2*       )       5.1         Idd name HA       )       5.2         Idd name HA       )       5.2         Idd name HA       )       5.2         Idd name HA       )       3.2         Idd name HB2       )       5.4         Idd name HB2       )       5.4         Idd name HB2       )       5.4         Idd name HB2
(114 and name HN ) ( 10 and name HN ) 3.5 (114 and name HN ) ( 11 ar (114 and name HN ) ( 10 and name HO $^{11}$ 3.5 (114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HD ) ( 113 and name HD $^{11}$ 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 113 ar (114 and name HN ) ( 113 and name HB ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 and name HN ) 5.0 ( 114 and name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 ard name HN ) ( 114 and name HN ) ( 114 ard name HN ) ( 114 ard name HN ) ( 114 ar (114 and name HN ) ( 114 ard name HN ) ( 114 ard name HN ) ( 114 ard name HN ) ( 103 ar (115 and name HN ) ( 103 and name HD $^{10}$ 5.0 ( 115 and name HN ) ( 103 ar (115 and name HN ) ( 103 ard name HD $^{10}$ 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 104 ard name HD $^{10}$ 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 104 ard name HD $^{10}$ 5.0 ( 115 and name HN ) ( 104 ar (115 and name HN ) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 ard name HD $^{10}$ 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 ard name HB ) 5.0 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 115 and name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 114 ar (115 and name HN ) ( 115 and name HA ) 3.5 ( 115 and name HN ) ( 115 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 115 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 ar (117 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 116 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 and name HA ) 3.5 ( 117 and name HN ) ( 116 and name HA ) (	Id         name         HN         )         5.1           Id         name         HG11         )         5.1           Id         name         HG2*         )         2.1           Id         name         HG12         )         5.1           Id         name         HG2*         )         3.1           Id         name         HG4         )         3.2           Id         name         HG2*         )         3.1           Id         name         HG2*         )         3.1           Id         name         HG2*         )         5.1           Id         name         HA2         )         5.1           Id         name         HA2         )         5.1           Id         name         HB2         )         5.1           Id         name         HB2 <t< td=""></t<>

(119	and	name	HN	)	(118	and	name	HA	) 2.	7	(119	and	name	HN )	(118	and	name
(119	and	name	HN	)	(118	and	name	HN	5	0	(119	and	name	HN )	(119	and	name
(110	and	manic	1111	ί.	(110	and	manic	1101	, 5.	Ē	(110	and	manne		(110	and	manic
(119	and	name	HN	)	(119	and	name	HBT	) 3.	5	(119	and	name	HN )	(119	and	name
(119	and	name	HN	)	(119	and	name	HD2	) 3.	5	(119	and	name	HN )	(120	and	name
(120	and	nomo	TINT	ί.	1 2	and	nomo	1100*	, J.	E	(120	and	nomo		1 2	and	nomo
(120	ana	name	HIN	)		and	name	HGZ	) 5.	5	(120	and	name	HIN )	( )	ana	Italle
(120	and	name	HN	)	( 4	and	name	HA	) 5.	0	(120	and	name	HN )	(119	and	name
1120	and	name	HN	í.	1120	and	name	ЧΔ	, , ,	5	120	and	name	HN )	1120	and	name
(120	ana	manic	1110	{	(120	ana	manic	1174	,	5		ana	manic	···· /	(120	ana	manic
(120	and	name	HN	)	(120	and	name	HB2	) 5.	0	(120)	and	name	HN )	(120)	and	name
(121)	and	name	HN	)	( 2	and	name	HG1 *	) 5.	0	(121)	and	name	HN )	( 95	and	name
(101			1111	<hr/>				1101	, .	Ē	(101		1104.000	1111	, ,,		
$(\bot \angle \bot$	and	name	HIN	)	( 95	and	name	HDZ^	) 3.	5	( 1 2 1	and	name	HN )	( 90	and	name
(121	and	name	HN	)	(97	and	name	HN	) 5.	0	(121	and	name	HN )	( 98	and	name
1121	and	nomo	LINT	ś	1 00	and	nomo	UD1*	) 5	0	(121	and	nomo	UNT )	1 00	and	nomo
$(\bot \angle \bot$	ana	name	HIN	/	( 90	and	name	HD1 "	) 5.	0		and	name	HIN )	( 90	anu	name
(121)	and	name	HN	)	( 99	and	name	HN	) 5.	0	(121	and	name	HN )	(120	and	name
(121	and	namo	UN	)	(120	and	namo	UD1	5	0	(121	and	namo	UN )	(120	and	namo
	anu	manie	TIIN	/	(120	anu	manie	IIDI	/ ].	0		anu	manie	111N )	(120	anu	manie
(121	and	name	HN	)	(120)	and	name	HD*	) 5.	0	(121	and	name	HN )	(121)	and	name
(121	and	name	HN	)	(121	and	name	HB1	5	0	(121	and	name	HN )	(121	and	name
(121	ana	manic	1110	{	(121	ana	manic	1101	,	-	( 1 2 1	ana	manic	···· /	(121	ana	manic
(121	and	name	HN	)	(121	and	name	HD2	) 3.	5	(121)	and	name	HN )	(122)	and	name
(121)	and	name	HN	)	(122)	and	name	HN	) 5.	0	(121)	and	name	HN )	(128)	and	name
(100			1111	<hr/>	(			117 1	, .	õ	(100		1104.000	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	(10)		
(122	ana	name	HN	)	( 1	ana	name	HAL	) 5.	0	(122	ana	name	HN )	( 1	ana	name
(122)	and	name	HN	)	( 2	and	name	HA	) 5.	0	(122)	and	name	HN )	( 2	and	name
(100	and	nomo	TINT	ś	$\hat{i}$	and	nomo	1117 *	) E	0	(100	and	nomo	TINT )		and	nomo
$( \bot \angle \angle$	ana	name	HIN	/	( )	and	name	HD.	) 5.	0		and	name	HIN )	( 95	anu	name
(122)	and	name	HN	)	(121)	and	name	HA	) 2.	7	(122	and	name	HN )	(121)	and	name
(122	and	namo	UN	)	(121	and	namo	UD 2	5	0	(122	and	namo	UN )	(122	and	namo
(122	and	manie	1111	(	(121	and	manie	IIDZ	, .	0		and	manie		(122	and	manie
(122)	and	name	HN	)	(122)	and	name	HB	) 5.	0	(122)	and	name	HN )	(122)	and	name
(122	and	name	HN	)	(122	and	name	HG2*	) २	5	(123	and	name	HN )	( 94	and	name
(100	0	22000	TINT	ί.	,	07.7	nome	117	, J.	Ē	(100	07.7	20000			0	20000
(123	and	name	HIN	)	( 95	and	name	нА	, 3.	Э	(123	and	name	HIN )	1 95	and	name
(123)	and	name	HN	)	(122)	and	name	HA	) 2.	7	(123)	and	name	HN )	(122)	and	name
(100	220	2000	UN	í	(100	220	2000	u <u>0</u> 1	, <u> </u>	0	(100	220	2000		(100	220	2000
(123	ana	nane	LIN	1	(122	ana	name	пGТ	, 5.	U	123	ana	name	чти )	(122	ana	name
(123	and	name	HN	)	(122	and	name	HN	) 5.	0	(123	and	name	HN )	(123	and	name
(100	and	namo	HN	ì	(100	and	name	цр1	) )	5	(100	and	namo	HN V	(100	and	name
(123	and	manne	111N	(	(14)	unu	manie	1101	, .	2	(100	unu	manne		(120	Juna	maille
(123	and	name	HN	)	(124	and	name	HN	) 5.	U	(123	and	name	HN )	(126	and	name
(124	and	name	HN	)	(122	and	name	НΑ	) 2	7	(124	and	name	HN )	(122	and	name
(101		manne	TINT	{	(100	and	manne	115.0	( <del>_</del> .	, ,	(104	and	manne		(104	and	manne
(124)	and	name	HN	)	(123	and	name	HBZ	) 5.	0	(124)	and	name	HN )	(124)	and	name
(124)	and	name	HN	)	(124)	and	name	HA2	) 3	5	(124)	and	name	HN )	(126)	and	name
(100			110.01	ί.	(100			117	, J.	0	100				(100		
(125	and	name	HDZI	)	(125	and	name	HA	) 5.	0	(125	and	name	HDZI )	(125	and	name
(125)	and	name	HD21	)	(125)	and	name	HB2	) 5.	0	(125)	and	name	HD21 )	(126)	and	name
(105	and	nomo	11000	ί.	(105	and	nomo	117	) E	ñ	(100	and	nomo		(100	and	nomo
(125	ana	name	HDZZ	)	(125	and	name	ΠА	) 5.	0	(125	and	name	HDZZ )	(125	anu	name
(125	and	name	HD22	)	(125	and	name	HB2	) 5.	0	(125	and	name	HN )	(124)	and	name
1125	and	n 2 m 0	LINT	í.	1121	and	nomo	U7 0	, , ,	5	125	and	nomo		1125	and	n 2 m 0
(12)	anu	manie	1111	!	(121	and	manie	1162	/ ].	5		and	manie	1110 )	(12)	and	manie
(126	and	name	HN	)	(122)	and	name	HB	) 5.	0	(126	and	name	HN )	(125	and	name
(126)	and	name	HN	)	(125)	and	name	HB1	) 5	0	(126	and	name	HN )	(125)	and	name
(100			TINT	ί.	(100			117	,	ř	100				(100		
(120	ana	name	HIN	)	(120	and	name	ΠА	) 5.	5	(120	and	name	HIN )	(120	anu	name
(126	and	name	HN	)	(126	and	name	HG1*	) 3.	5	(126	and	name	HN )	(126	and	name
1127	and	name	HN	í.	1126	and	name	ЧΔ	, ) 2	7	127	and	name	HN )	1126	and	name
(127	ana	manic	1110	{	(120	ana	manic		/ 2.	,		ana	manic	···· /	(120	ana	manic
(127)	and	name	HN	)	(126	and	name	HGI*	) 5.	0	(127)	and	name	HN )	(126	and	name
(127	and	name	HN	)	(126	and	name	HN	5	0	(127	and	name	HN )	(127	and	name
(107	and	manic		:	(100	and	manic	TTD d	,	e i		and	manic		(100	and	manic
$(\perp 2 /$	ana	name	HN	)	$(\perp 2 /$	ana	name	HB^	) 3.	5	$(\perp 2 /$	ana	name	HN )	$(\perp 2)$	ana	name
(127)	and	name	HN	)	(128	and	name	HN	) 5.	0	(128)	and	name	HN )	( 3	and	name
1120	and		TINT	ś	1 2	and		1117.*	) E	0	1 20	and	~~~~		(107	and	~~~~~
(120	ana	name	HIN	/	( )	and	name	пв	) 5.	0	(120	and	name	HIN )	(12/	ana	Italle
(128	and	name	HN	)	(127)	and	name	HB*	) 3.	5	(128)	and	name	HN )	(127)	and	name
128	and	namo	UN	í.	128	and	namo	uλ	, } 2	5	128	and	namo	UN )	1128	and	namo
(120	anu	manie	TIIN	/	(120	anu	manie	114	,	5	(120	anu	manie	111N )	(120	anu	manie
(128	and	name	HN	)	(128	and	name	HD1*	) 5.	0	(128	and	name	HN )	(128	and	name
(128	and	name	HN	)	(128	and	name	HG12	) 7	5	(128	and	name	HN )	(128)	and	name
(100	and	manic		:	(100	and	manic	11012	,	-	(100	and	manic		(100	and	manic
(129	and	name	HN	)	(128	and	name	HA	) 2.	7	(129	and	name	HN )	(158)	and	name
(129	and	name	HN	)	(128	and	name	HD1*	) 5.	0	(129)	and	name	HN )	(128)	and	name
1120	and	nomo	LINT	ś	1120	and	nomo	UC12	) 5	0	120	and	nomo		1120	and	nomo
(129	anu	Itallie	піл	/	(120	anu	Italle	HGIZ	/ 5.	0		anu	Italle	пи )	(120	anu	Itallie
(129	and	name	HN	)	(128	and	name	HN	) 5.	0	(129	and	name	HN )	(129	and	name
(129	and	name	HN	)	(129	and	name	HB1	) 3	5	(129	and	name	HN )	(129)	and	name
(100	ana	manic	1111	(	(100	ana	manic	IID1	, .	2		ana	manic		(12)	and	manic
(129	and	name	HIN	)	(129	and	name	HG^	, 5.	U	(⊥∠9	and	name	нıм)	(130	and	name
(129)	and	name	HN	)	(132)	and	name	HB*	) 3.	5	(130)	and	name	HN )	(129)	and	name
(120	and	nomo	TINT	ś	(120	and	nomo	11101	, E	õ	120	and	nomo		(120	and	nomo
(130	and	maille	1,110	1	1129	and	maille		, 5.	5	(130	and	maille	TTTN )	(130	and	maille
(130	and	name	HN	)	(130	and	name	HB1	) 2.	7	(130	and	name	HN )	(130	and	name
(120	and	namo	HN	)	(120	and	name	HC*	) 2	5	(120	and	namo	HN V	(121	and	name
(127	unu,	manne	TITAT	(	(100	unu	manie	11.3	, .	2	(121	unu	manne		(100	Juna	maille
(131	and	name	HN	)	(129	and	name	HА	) 5.	U	(131	and	name	HN )	(129	and	name
(131	and	name	HN	)	(129	and	name	HB2	) 5	0	(131	and	name	HN )	(130	and	name
(101	0	man	TINT	ί.	(1 2 1		manic	117	, J.	Ē	(1)1		ment	/	(1 21		ner
(131	and	name	HIN	)	(131	and	name	нА	, 3.	С	(T2T	and	name	нıм)	(131	and	name
(131)	and	name	HN	)	(131	and	name	HG*	) 5.	0	(132)	and	name	HN )	(129	and	name
1120	and	namo	HN	í	1120	and	name	HN	, <u>-</u> .	0	122	and	namo	HN V	1120	and	name
1132	anu	maille	1111	!	(127	anu	maille	T T T N	, 5.	0		anu	manie	TTTN )	(130	anu	maille
(132	and	name	ΗN	)	(131	and	name	HA	) 5.	U	(132	and	name	HN )	(131	and	name
(132	and	name	HN	)	(131	and	name	HG*	) 5	0	(132	and	name	HN Ì	(131	and	name
(122	7	and the	1117	{	(122	7	manic	117	, J.	г Г	(122	7	manic	/	(122	7	incitic
(132	and	name	HN	)	(132	and	name	HА	, 3.	э	(132	and	name	HN)	(132	and	name
(132	and	name	HN	)	(132	and	name	HD2	) 5.	0	(132	and	name	HN )	(133	and	name
1122	and	name	UN	í.	(120	and	namo	ᆸᆮ *	) 5	0	(122	and	name	un í	1120	and	namo
(133	and	maille	1,110	(	(120	and	maille	<u>пь</u>	, .	5	(100	and	maille	TTTN )	(127	and	maille
(133	and	name	HN	)	(130	and	name	HA	) 3.	5	(133	and	name	HN )	(132	and	name
(122	and	name	HN	)	(122	and	name	HR*	) २	5	(122	and	name	HN )	(122	and	name
(122	7	manne	111N	{	(120	7	manne		,	5	(100	7	manne		(100	7	manne
(133	and	name	HN	)	(132	and	name	HN	) 3.	5	(133	and	name	HN )	(133	and	name
(133)	and	name	HN	)	(133)	and	name	HB	) 2.	7	(133)	and	name	HN )	(133)	and	name
(122			TINT	ś	(122			1100+	, <u>.</u> .	0	(174				(120		
(133	ana	nane	LIN	1	(133	ana	naile	nG∠^	, 5.	U	134	ana	nane	LTIN )	(130	ana	name
(134	and	name	HN	)	(131	and	name	HA	) 5.	0	(134	and	name	HN )	(132	and	name
(121	and	namo	HN	)	(122	and	name	HN	) 5	0	(134	and	namo	HN V	(122	and	name
(124	unu,	manne	TITAT	(	(122	unu	manie	1110	, 5.	š	(101	unu	manne		(100	Juna	maille
(134	and	name	HN	)	(133	and	name	нв	) 5.	U	(134	and	name	HN )	(133	and	name
(1.34)	and	name	HN	)	(133	and	name	HG2*	) 3	5	(134)	and	name	HN )	(133	and	name
(17/	2210	nome	UNT	í	(104	22-10	nor	110 L	, J.	Ē	(134	22-10	nome	LINI \	(174	22.10	2201110
(134	ana	nane	LIN	1	(134	ana	naile	пА	, 3.	5	134	ana	nane	лти )	(134	ana	name
(134	and	name	HN	)	(135	and	name	HN	) 2.	7	(134	and	name	HN )	(136	and	name
(125	and	namo	HN	í	(121	and	name	ЧΛ	5 5	0	125	and	namo	HN V	(121	and	name
(133	and	maille	1,110	1	(1)1	and	maille	ITA	, 5.	0	(133	and	maille	TTTN )	(1)1	and	maille
(135	and	name	HN	)	(132	and	name	HA	) 5.	0	(135	and	name	HN )	(133	and	name
(125	and	name	HN	)	(124	and	name	ΗА	) 5	0	(135	and	name	HN Ì	(124	and	name
(125	unu	manne	TINT	{	(101	unu 7	maille	1107	, 5.	0	(100)	unu 7	manne		(1)1	unu 7	maille
(135		name	HN	)	(134	and	name	HG*	, 5.	U	(135	and	name	HN)	(135	and	name
	and	manic							· •	_		-			1120	-	
(135	and and	name	HN	)	(135)	and	name	HB*	) 2.	7	(135)	and	name	HN )	(L.3h	and	name
(135	and and	name	HN	)	(135)	and	name	HB*	) 2.	7	(135)	and	name	HN )	(130 (134	and	name

(136	and name	HN ) (	135 a	nd nam	e HA	) 5 0	(136	and	name	HN )	(135	and	name	HR*	) 35
(120	and name		100 a		- IIA1	) 3.0	(120	and	manne		(120	and	manne	112 )	
(136	and name	HN ) (.	136 a	na nam	e hai	) 3.5	(136	and	name	HN )	(136	ana	name	HAZ )	) 3.5
(136	and name	HN ) (	137 a	nd nam	e HB*	) 5.0	(137	and	name	HN )	(133	and	name	HA )	) 5.0
1127	and name	UN ) (	134 -	nd nam		1 3 5	1127	and	namo	UN )	1136	and	namo	עד 1	35
(1)7			137 a			) 3.5	(1)	and	manie	111N /	(120	and	manie	IIAL )	,
(137	and name	HN ) (.	136 a	nd nam	e HA2	) 3.5	(137)	and	name	HN )	(136	and	name	HN )	) 2.7
(137	and name	HN ) (	137 a	nd nam	e HA	) 3.5	(137)	and	name	HN )	(137)	and	name	HB*	) 2.7
(127	and name	LINI ) (	127 2	nd nom	0 101	) 2 5	(127	and	namo	LINT )	(127	and	nomo	uC2	5 6
(137		пи ) (.	137 a	nu nam	e ngi	, 3.5	(137	anu	Italle	IIN )	(157	anu	Itallie	ngz ,	, 5.0
(137	and name	HN ) ()	138 a	nd nam	e HB*	) 5.0	(137	and	name	HN )	(138	and	name	HN )	) 3.5
(137	and name	HN ) (	139 a	nd nam	e HN	) 5.0	(137)	and	name	HN )	(140)	and	name	HN )	) 5.0
(120			105 0		- 117	) 3.0	(120	and	manic		(120	and	manne	1110 )	, 5.0
(138	and name	HN ) (.	135 a	na nam	ена	) 3.5	(138	and	name	HIN )	(130	and	name	HN ,	) 5.0
(138	and name	HN ) (1	137 a	nd nam	e HA	) 3.5	(138	and	name	HN )	(137	and	name	HB* )	) 2.7
(138	and name	LINI ) (	138 -	nd nam		35	1120	and	namo	LINI )	(138	and	namo	UD*	) 27
(120			100 u	na nan	- 11/1	, 5.5	(120	and	manic		(120	ana	manic	IID ,	, 2.,
(138	and name	HN ) (.	138 a	na nam	e HGI	) 5.0	(138	ana	name	HN )	(138	ana	name	HGZ ,	) 5.0
(138	and name	HN ) (	139 a	nd nam	e HB*	) 5.0	(138	and	name	HN )	(139	and	name	HN )	) 3.5
1120	and name	UN ) (	135 3	nd nam		, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	1120	and	namo	UN )	1136	and	namo	עד 2 עד	50
(13)			135 a			) 5.0	(12)	and	manie	111N /	(120	and	manie	IIAZ )	, 5.0
(139	and name	HN ) (.	137 a	nd nam	е на	) 5.0	(139	and	name	HN )	(138	and	name	HA )	) 3.5
(139	and name	HN ) ()	138 a	nd nam	e HB*	) 3.5	(139	and	name	HN )	(138	and	name	HG1	) 5.0
1120	and name	UNI ) (	138 2	nd nam	A UC2	5 0	1120	and	namo	UNI )	1120	and	namo	עע	3 5
(1)		111N ) (.	130 a		e 1162	) 5.0	(1)	and	manie	111N )	(1))	and	manie		, 5.5
(139	and name	HN ) (.	139 a	nd nam	e HB*	) 2.7	(139	and	name	HN )	(139	and	name	HGI )	) 3.5
(139	and name	HN ) ()	139 a	nd nam	e HG2	) 5.0	(139	and	name	HN )	(141	and	name	HN )	) 5.0
1120	and name		112 -	nd nom	OUN	) 5 0	1110	and	namo	UNI )	1126	and	nomo	י כעד	50
(13)			172 a			) 5.0	(140	and	manie	111N /	(120	and	manie	IIAZ )	, 5.0
(140	and name	HN ) (.	137 a	nd nam	e HA	) 5.0	(140)	and	name	HN )	(138	and	name	HB* )	) 5.0
(140	and name	HN ) (	138 a	nd nam	e HN	) 5.0	(140	and	name	HN )	(139	and	name	HA )	) 5.0
(140	and name	UN ) (	130 2	nd nam		) 35	1140	and	name	UN )	(130	and	name	UC1	50
(110		111N ) (.	139 a			, 5.5	(110	and	manie	111N )	(1))	and	manie	IIGT )	, 5.0
(140	and name	HN ) (	139 a	nd nam	e HN	) 3.5	$(\pm 40)$	and	name	HN )	(140	and	name	HA )	) 3.5
(140	and name	HN ) (	140 a	nd nam	e HB*	) 2.7	(140	and	name	HN )	(141	and	name	HB*	) 5.0
(110	and nome	HN V	141 ~	nd nom	с ЦМ	) 2 5	1140	and	namo	HN Y	(140	and	namo	HN	) <u> </u>
(140	and name	TTTN ) (	191 d	ing itali	C 111N	, 5.5	(140	and	maille	111N /	(142	anu	manie	1111	, 5.0
(141	and name	HN ) (1	137 a	nd nam	e HA	) 5.0	(141	and	name	HN )	(137	and	name	нв* )	) 5.0
(141)	and name	HN ) (	138 a	nd nam	e HA	) 3.5	(141)	and	name	HN )	(140	and	name	HA	) 3.5
(1 / 1	and name	UN \ /	140 -	nd nom		) 2 5	1111	224	nome	un (	(1/1	224	nomo	цл ,	) 2.5
(141	and name	TITN ) (	⊥ <del>u</del> ∪a	nu nam	с пв"	, 3.3	(141	and	naille	ли ) 	(141	ana	naille	пА	, 3.5
(141	and name	HN ) (	⊥41 a	nd nam	e HB*	) 2.7	(⊥41	and	name	HN )	(142	and	name	HB2 )	) 5.0
(142	and name	HD21 ) (	138 =	nd nam	e HG2	) 5.0	(142	and	name	HD21	(139	and	name	HA	) 5.0
(140	and name		110 -	nd no-	- 1102 - U7	, 5.0	1110	220	nome	UD 21 \	(140	222	nome	UD1 1	, 5.0
(142	and name	лидт ) (.	⊥⊐∠ a	nu nam	с па	, 5.0	(142	and	naille	лидт )	(142	ana	naille	пві )	, 5.0
(142	and name	HD21 ) (1	142 a	nd nam	e HB2	) 5.0	(142)	and	name	HD22 )	(138	and	name	HG1 )	) 5.0
(142	and name	HD22) (	138 a	nd nam	e HG2	5 0	(142)	and	name	HD22)	(139	and	name	НΔ	50
(140	and name		140 -		- 117	) 5.0	(140				(140			1101	, 5.0
(142	and name	HDZZ ) (	142 a	na nam	ена	) 5.0	(142	and	name	HDZZ )	(142	and	name	ныт ,	) 5.0
(142	and name	HD22 ) (1	142 a	nd nam	e HB2	) 5.0	(142)	and	name	HN )	(138	and	name	HA )	) 5.0
1142	and name	UN ) (	130 -	nd nam		50	1142	and	namo	UN )	1140	and	namo	עד ו	50
(112			1 J J U	110 11010		, 5.0	(140	ana	manic	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	(1 4 1	ana	manic		, 5.0
(142	and name	HN ) (.	141 a	nd nam	е на	) 5.0	(142)	and	name	HN )	(141	and	name	нв* )	) 3.5
(142	and name	HN ) (1	141 a	nd nam	e HN	) 3.5	(142)	and	name	HN )	(142)	and	name	HA )	) 3.5
1142	and name	UNI ) (	142 2	nd nam		) 3 5	1142	and	namo	UN )	1142	and	namo	UD2 1	35
(142			142 a	nu nam		) 5.5	(142	anu	Italle	HIN )	(142	anu	name	пва ,	, 3.5
(142	and name	HN ) (.	142 a	nd nam	e HD21	) 5.0	(142)	and	name	HN )	(142)	and	name	HD22 )	) 5.0
(142	and name	HN ) (	143 a	nd nam	e HB2	) 5.0	(142)	and	name	HN )	(144)	and	name	HN )	) 5.0
1143	and name	HN ) (	141 a	nd nam	e HN	5 0	1143	and	name	HN )	1142	and	name	на і	5 0
(11)		111N ) (.	171 a			) 5.0	(11)	and	manie	111N )	(172	and	manie	11A )	, 5.0
(143	and name	HN ) (.	142 a	nd nam	e HBI	) 5.0	(143	and	name	HN )	(142)	and	name	HB2 )	) 3.5
(143	and name	HN ) (	142 a	nd nam	e HN	) 3.5	(143	and	name	HN )	(143	and	name	HB1	) 3.5
1143	and name	HN ) (	142 2	nd nam	A HB2	) 35	1143	and	name	HN )	1143	and	name	HD1*	50
(14)			140 u	na nan		, 5.5	(14)	and	manic		(11)	ana	manic	IIDI )	, 5.0
(143	and name	HN ) (.	143 a	na nam	e HDZ^	) 5.0	(143	and	name	HN )	(143	ana	name	HG )	) 5.0
(143	and name	HN ) (	144 a	nd nam	e HN	) 3.5	(144)	and	name	HN )	(141	and	name	HA )	) 3.5
(144	and name	HN ) (	142 a	nd nam	e HA	5 0	(144	and	name	HN )	(143	and	name	НА	5 3 5
(144			142 .		- 1101	, 5.0	(144	and	manic		(14)	and	manne	1111 )	, 5.5
(144	and name	HN ) (.	143 a	na nam	е нві	) 5.0	(144	ana	name	HN )	(143	ana	name	HBZ )	) 5.0
(144	and name	HN ) (1	143 a	nd nam	e HD1*	) 5.0	(144)	and	name	HN )	(143	and	name	HD2*	) 5.0
1144	and name	HN ) (	144 2	nd nam	ο HΔ	1 3 5	1144	and	name	HN )	1144	and	name	HB1	5 3 5
(111			144 -			) 3.5	(111	and	manic		(111	ana	manic	IID1 )	, 5.5
(144	and name	HN ) (.	144 a	na nam	е нви	) 3.5	(144	ana	name	HN )	(144	ana	name	HD^ )	) 5.0
(144	and name	HN ) (1	147 a	nd nam	e HD1*	) 5.0	(145	and	name	HN )	(141	and	name	HA )	) 5.0
(145	and name	HN ) (	142 a	nd nam	e HA	) 3 5	(145	and	name	HN )	(142	and	name	HN	50
(140	and name		142 -		- 117	) 5.5		and	manne		(112	and	manne	TINT )	, 5.0
(145	and name	HIN ) (	143 a	na nam	ена	) 5.0	(145	and	name	HIN )	(143)	and	name	HIN ,	) 5.0
(145	and name	HN ) (1	144 a	nd nam	e HA	) 5.0	(145	and	name	HN )	(144	and	name	HB1 )	) 3.5
(145	and name	HN ) (	144 a	nd nam	e HB2	) 3.5	(145	and	name	HN )	(144	and	name	HD*	5.0
(140	and name		144 -			) 3.5 ) 3.5	(140			TINT )	(14			112 )	) 3.0 ) 7.5
(145	and name	HIN ) (.	144 a	na nam	e nn	) 3.5	(145	and	name	HIN )	(145	ana	name	на ,	, 3.5
(145	and name	HN ) (.	145 a	nd nam	e HB*	) 2.7	(146	and	name	HN )	(142)	and	name	HA )	) 5.0
(146	and name	HN ) (	143 a	nd nam	e HA	) 3.5	(146	and	name	HN )	(143	and	name	HB1	) 5.0
(146	and name	HN ) (	142 -	nd nam	e HN	) 5 0	(146	and	name	HN V	(144	and	name	на 7	) 5 0
(140	and name		115 a	nd	- IIIN	,	(110	0	manie		( <u>1</u> 7 1	0	ner		, 5.0
(146	and name	пім ) (	145 a	na nam	енА	1 3.5	(146	and	name	ни )	(145	and	name	нв^ )	1 3.5
(146	and name	HN ) (	145 a	nd nam	e HN	) 3.5	(146	and	name	HN )	(146	and	name	HA	) 3.5
(146	and name	HN ) (	146 -	nd nam	e HB1	) 3.5	(146	and	name	HN )	(146	and	name	HB2	) 27
(140	and man		11C -	nd	- IID0+	, 5.5	1110		nomi	/	(110	0	nome	110	, <u>.</u> ., ,
(146	ang name	ПIN ) (.	140 a	na nam	e HDZ^	, 5.0	(140	and	name	ни )	(140	and	name	нG )	/ 3.5
(146	and name	HN ) (	⊥47 a	nd nam	e HA	) 5.0	(146	and	name	HN )	(147	and	name	HB )	) 5.0
(146	and name	HN ) (	147 a	nd nam	e HD1*	) 5.0	(146	and	name	HN )	(147	and	name	HG11	) 5 0
(140	and name	/ ( ·	110 -	nd no-	- UD*	, 5.0	1116	220	nome		(140	222	nome		, 5.0
(146	and name	LIIN ) (	⊥чв а	na nam	е пв^	, 5.0	(140	and	name	лим )	(149	ana	nane	TIN )	, 5.0
(147	and name	HN ) (	33 a	nd nam	e HD1*	) 5.0	(147	and	name	HN )	(144	and	name	HA )	) 5.0
(147	and name	HN ) (	145 a	nd nam	e HA	) 5.0	(147	and	name	HN )	(146	and	name	HA	) 3.5
(1 4 7	and news		116	nd ~-~~		) 2.5 ) 2.5	1117		nor		(1)/			UD0 1	, 2.5
(14/	ang name	гим ) (.	тно a	na nam	е чвт	, 3.5	(14/	and	name	ли )	(140	ana	nane	пв∠ ,	, 2.1
(147	and name	HN ) (	146 a	nd nam	e HG	) 5.0	(147	and	name	HN )	(146	and	name	HN )	) 2.7
(147	and name	HN ) (	147 a	nd nam	e HA	) 3.5	(147	and	name	HN )	(147	and	name	HB	) 2.7
(1 4 -	and n	/ ( ·	117 .	nd ~-~	- LID1+	, 3.5 \ 2.5	(1/7	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	norre	LINI V	(1/7	~~~- <sup>_</sup>	nome	UC10	, <u>.</u> ., ,
(14/	ang name	гим ) (.	14/ a	na nam	E HDI.	, 3.5	(14/	and	name	ли )	(14/	ana	nane	ngiz )	1 3.5
(147	and name	HN ) (	⊥47 a	nd nam	e HG2*	) 5.0	(147	and	name	HN )	(147	and	name	HG2*	) 5.0
(147	and name	HN ) (	149 a	nd nam	e HN	) 5.0	(147	and	name	HN )	(150	and	name	HB*	) 5.0
(140	and name	UN \ (	10 -	nd nom	0 UC	) 5.0	1110	222	nome	UNI V	(1//	and	nome	цл (	, 5.0
(148	anu name	пи ) (	_⊥o a	na nam	епс	, 5.0	(148	and	naille	гііх )	(144	and	nalle	пА )	, 5.0
(148	and name	HN ) (	⊥45 a	nd nam	e HA	) 3.5	(148	and	name	HN )	(146	and	name	HA )	) 5.0
(148	and name	HN ) (	146 a	nd nam	e HN	) 5.0	(148	and	name	HN )	(147	and	name	HA	) 5.0
(1/0	and name	UN \ /	147 ~	nd nom		) 3 5	1110	and	namo	UN \	(1/7	and	name	י * ו חע	) E 0
(148		1111 ) ( .	147 a	nu nam		, 3.3	(140	and	naille	( MILI	(14/	and	naille		, 5.0
(148	and name	HN ) (	⊥47 a	nd nam	e HGll	) 5.0	(148	and	name	HN )	(147	and	name	HG12 )	) 5.0
(148	and name	HN ) (	147 a	nd nam	e HG2*	) 5.0	(148	and	name	HN )	(147	and	name	HN	) 3.5
(140	and name	HN ) /	148 ~	nd nam	O HA	) 3 5	1149	and	name	HN V	(149	and	name	HB*	, 2.5 \ 2.7
(148	anu name	TTTN / (.	140 d	nu nall	C IA	, 3.5	(140	and	maille	111N )	(140	and	maille	п <b>р</b> . )	, 2.1
1	-	HN ) ()	⊥48 a	nd nam	e HG*	) 2.7	(⊥48	and	name	HN )	(⊥49	and	name	HN )	) 3.5
(148	and name	, ,						-		TTNT )	(145				) 5 0
(148 (148	and name	HN ) (	150 -	nd nam	e HN	) 5.0	(]49	and	name	HN 1	( ) 4 5	ano	name	HA	, , , ,
(148)	and name	HN ) (	150 a	nd nam	e HN	) 5.0	(149)	and	name	HN )	(145)	and	name	HA )	) 5.0
(148 (148 (149	and name and name and name	HN ) ( HN ) (	150 a 146 a	nd nam nd nam	e HN e HA	) 5.0 ) 3.5	(149 (149	and and	name name	HN ) HN )	(145) $(147)$	and	name name	HA HB	) 5.0
(148 (148 (149 (149	and name and name and name and name	HN ) (1 HN ) (1 HN ) (1	150 a 146 a 148 a	nd nam nd nam nd nam	e HN e HA e HA	) 5.0 ) 3.5 ) 5.0	(149 (149 (149	and and and	name name name	HN ) HN ) HN )	(145 (147 (148	and and and	name name name	HA HB HB*	) 5.0 ) 3.5

(149	and	name	HN	) (	(149	and	name	HB	)	2.7	(149	and	name	HN	) (	149	and	name	HG2*	) 5.0
(149	and	name	HN	í	(150	and	name	HB*	í	5.0	(149	and	name	HN	í	151	and	name	HN	) 5.0
(150	and	name	HN	ì	( 33	and	name	HD1*	ý	5.0	(150	and	name	HN	ì	146	and	name	HA	) 5.0
(150	and	name	HN	í	(147	and	name	HΔ	ś	5 0	(150	and	name	HN	í	147	and	name	HN	) 5.0
(150)	and	name	HN	í í	(148	and	name	HA	ś	5.0	(150	and	name	HN	í í	149	and	name	HA	) 5.0
(150	and	name	HN	ŝ	(149	and	name	HB	ś	3 5	(150	and	name	HN	ŝ	149	and	name	HC22*	) 3.0 ) 3.5
(150	and	name	HN	ŝ	(149	and	name	HN	ś	3.5	(150	and	name	HN	ŝ	150	and	name	HD HD	) 3.5
(150	and	name	UN	1	(150	and	namo	1110 UD*	1	2.7	(150	and	namo	LIN	1	150	and	namo	א חם	) 5.0
(150	and	name	UN	{ }	(151	and	name	UC	{	5 0	(150	and	name	LIN	{ }	151	and	name	UN	) 3.0
(150	and	namo	LINT		(152	and	name	UN	{	5.0	(150	and	name	LINT		12	and	name	UC11	) 5.5
(150	and	namo	UN		(102)	and	name	пі 1*	{	5.0	(151	and	name	LIN		147	and	name	UD UD	) 5.0
(151	and	name			(147	and	name		{	5.0	(151	and	name			110	and	name		) 5.0
(151	and	name	TIN		(14)	and	name	HGZ"	{	5.0	(151	and	name	TIN		1 5 0	and	name		
(151	and	name	TIN		(149	and	name	HA	(	5.0	(151	and	name	TIN		150	and	name		
(151	and	name	TIN		(150	and	name	пв	(	3.5	(151	and	name	TIN		150	and	name		) 3.5
(151	and	name	HIN		(151)	and	name	HA	(	3.5	(151	and	name	HIN		151	and	name	HBI UD1+	) 3.5
(151	and	name	HIN		(151 (151	and	name	HBZ	)	5.0	(151	and	name	HIN		151	and	name	HD1 °	) 3.5
(151	and	name	HIN		(151	and	name	HDZ^	(	3.5	(151	and	name	HIN			and	name	HG UD1+	) 2./
(151	and	name	HIN		(15Z	and	name	HIN	)	3.5	(152	and	name	HIN		13	and	name	HDI ^	) 3.5
(152	and	name	HN	) (	(13)	and	name	HGII	)	3.5	(152	and	name	HN	) (	140	and	name	HGIZ	) 5.0
(152	and	name	HN	) (	(148)	and	name	HA	)	5.0	(152	and	name	HN	) (	149	and	name	HA	) 3.5
(152	and	name	HN	) (	(150	and	name	HA	)	5.0	(152	and	name	HN	) (	150	and	name	HB^	) 5.0
(152	and	name	HN	) (	(151	and	name	HA	)	3.5	(152	and	name	HN	) (	151	and	name	HBI	) 5.0
(152	and	name	HN	) (	(151	and	name	HB2	)	5.0	(152	and	name	HN	) (	151	and	name	HD2*	) 5.0
(152	and	name	HN	) (	(151	and	name	HG	)	5.0	(152	and	name	HN	) (	152	and	name	HA	) 3.5
(152	and	name	HN	) (	(152	and	name	HB1	)	5.0	(152	and	name	HN	) (	152	and	name	HB2	) 2.7
(152	and	name	HN	) (	(152	and	name	HG*	)	5.0	(152	and	name	HN	) (	153	and	name	HA2	) 5.0
(152	and	name	HN	) (	(154	and	name	HN	)	5.0	(153	and	name	HN	) (	13	and	name	HD1*	) 5.0
(153	and	name	HN	) (	(13	and	name	HG11	)	5.0	(153	and	name	HN	) (	149	and	name	HA	) 5.0
(153	and	name	HN	) (	(149	and	name	HG2*	)	5.0	(153	and	name	HN	) (	(150	and	name	HA	) 5.0
(153	and	name	HN	) (	(150	and	name	HN	)	5.0	(153	and	name	HN	) (	151	and	name	HN	) 5.0
(153	and	name	HN	) (	(152	and	name	HA	)	3.5	(153	and	name	HN	) (	152	and	name	HB2	) 3.5
(153	and	name	HN	) (	(152	and	name	HN	)	3.5	(153	and	name	HN	) (	153	and	name	HA1	) 3.5
(153	and	name	HN	) (	(153	and	name	HA2	)	3.5	(153	and	name	HN	) (	(154	and	name	HA	) 5.0
(153	and	name	HN	) (	(154	and	name	HB2	)	5.0	(153	and	name	HN	) (	154	and	name	HN	) 3.5
(153	and	name	HN	) (	(155	and	name	HD2	)	5.0	(154	and	name	HN	) (	(150	and	name	HA	) 5.0
(154	and	name	HN	) (	(150	and	name	HD*	)	5.0	(154	and	name	HN	) (	(151	and	name	HA	) 3.5
(154	and	name	HN	) (	(151	and	name	HD2*	)	5.0	(154	and	name	HN	) (	(152	and	name	HA	) 5.0
(154	and	name	HN	) (	(152	and	name	HB2	)	5.0	(154	and	name	HN	) (	(153	and	name	HA1	) 3.5
(154	and	name	HN	) (	(153	and	name	HA2	)	3.5	(154	and	name	HN	) (	(154	and	name	HA	) 3.5
(154	and	name	HN	) (	(154	and	name	HB1	)	5.0	(154	and	name	HN	) (	(154	and	name	HB2	) 3.5
(154	and	name	HN	) (	(155	and	name	HD1	)	5.0	(154	and	name	HN	) (	(155	and	name	HD2	) 5.0
(154	and	name	HN	) (	(157	and	name	HB*	)	5.0	(156	and	name	HN	) (	(154	and	name	HA	) 3.5
(156	and	name	HN	) (	(154	and	name	HB1	)	5.0	(156	and	name	HN	) (	(155	and	name	HA	) 3.5
(156	and	name	HN	) (	(155	and	name	HB1	)	5.0	(156	and	name	HN	) (	(155	and	name	HD1	) 3.5
(156	and	name	HN	) (	(155	and	name	HD2	)	5.0	(156	and	name	HN	) (	(155	and	name	HG*	) 3.5
(156	and	name	HN	) (	(156	and	name	HA	)	3.5	(156	and	name	HN	) (	(156	and	name	HB*	) 3.5
(156	and	name	HN	) (	(157	and	name	HA	)	5.0	(156	and	name	HN	) (	(157	and	name	HB*	) 3.5
(157	and	name	HN	) (	(150	and	name	HE*	)	5.0	(157	and	name	HN	) (	(151	and	name	HD2*	) 5.0
(157	and	name	HN	) (	(154	and	name	HA	)	5.0	(157	and	name	HN	) (	(154	and	name	HB1	) 5.0
(157	and	name	HN	) (	(154	and	name	HB2	)	5.0	(157	and	name	HN	) (	(155	and	name	HA	) 5.0
(157	and	name	HN	) (	(155	and	name	HD1	)	5.0	(157	and	name	HN	) (	(156	and	name	HA	) 3.5
(157	and	name	HN	) (	(156	and	name	HB1	)	5.0	(157	and	name	HN	) (	(156	and	name	HB2	) 5.0
(157	and	name	HN	) (	(156	and	name	HN	)	3.5	(157	and	name	HN	) (	(157	and	name	HA	) 3.5
(157	and	name	HN	) (	(157	and	name	HB*	)	2.7	(157	and	name	HN	) (	(158	and	name	HN	) 5.0
(158	and	name	HN	) (	(157	and	name	HA	)	2.7	(158	and	name	HN	) (	(157	and	name	HB*	) 3.5
(158	and	name	HN	) (	(158	and	name	HA	)	3.5	(158	and	name	HN	) (	(158	and	name	HB1	) 5.0
(158	and	name	HN	) (	(158	and	name	HB2	)	5.0	(158	and	name	HN	) (	(158	and	name	HD*	) 5.0
(159	and	name	HD21	) (	( 17	and	name	HD*	)	5.0	(159	and	name	HD21	) (	(156	and	name	HA	) 5.0
(159	and	name	HD21	) (	(159	and	name	HA	)	5.0	(159	and	name	HD21	) (	(159	and	name	HB1	) 5.0
(159	and	name	HD21	) (	(159	and	name	HB2	)	5.0	(159	and	name	HD22	) (	( 17	and	name	HD*	) 5.0
(159	and	name	HD22	) (	(155	and	name	HA	)	5.0	(159	and	name	HD22	) (	(156	and	name	HA	) 5.0
(159	and	name	HD22	) (	(159	and	name	HB1	)	5.0	(159	and	name	HD22	) (	(159	and	name	HB2	) 5.0
(159	and	name	HN	) (	(156	and	name	HA	)	5.0	(159	and	name	HN	) (	(157	and	name	HA	) 5.0
(159	and	name	HN	) (	(158	and	name	HA	)	3.5	(159	and	name	HN	) (	(158	and	name	HB1	) 5.0
(159	and	name	HN	) (	(158	and	name	HB2	)	5.0	(159	and	name	HN	) (	(158	and	name	HD*	) 5.0
(159	and	name	HN	) (	(158	and	name	HN	)	3.5	(159	and	name	HN	) (	(159	and	name	HA	) 3.5
(159	and	name	HN	) (	(159	and	name	HB1	)	3.5	(159	and	name	HN	) (	(159	and	name	HB2	) 2.7
(159)	and	name	HN	) (	(159)	and	name	HD21	)	5.0	(159)	and	name	HN	) (	159	and	name	HD22	) 5.0

# 10.5.1.2 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D-<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-NOESY-HSQC

(	2	and	name	HA	)	( 2	and	name	HG2*	)	3.5	(	2	and	name	HB	)	( 2	and	name	HG2*	)	2.7
(	2	and	name	HG2*	)	(119	and	name	HB1	)	3.5	(	2	and	name	HG2*	)	(119	and	name	HB2	)	2.7
(	8	and	name	HA	)	( 8	and	name	HB*	)	2.7	(	8	and	name	HA	)	( 9	and	name	HA	)	5.0
(	8	and	name	HA	)	(115	and	name	HA	)	2.7	(	8	and	name	HA	)	(115	and	name	HG*	)	3.5
(	30	and	name	HB	)	( 38	and	name	HG11	)	5.0	(	30	and	name	HB	)	( 38	and	name	HD1*	)	3.5
(	33	and	name	HD1*	)	( 33	and	name	HA	)	5.0	(	33	and	name	HD1*	)	( 33	and	name	HB	)	3.5
(	33	and	name	HD1*	)	( 33	and	name	HG11	)	3.5	(	33	and	name	HD1*	)	( 33	and	name	HG12	)	3.5
(	33	and	name	HD1*	)	(146	and	name	HD2*	)	5.0	(	38	and	name	HA	)	( 38	and	name	HG12	)	5.0
(	38	and	name	HA	)	( 38	and	name	HG2*	)	3.5	(	38	and	name	HA	)	( 38	and	name	HD1*	)	3.5
(	38	and	name	HG2*	)	( 56	and	name	HA	)	5.0	(	66	and	name	HA	)	( 67	and	name	HG1*	)	5.0
(	67	and	name	HA	)	( 67	and	name	HG1*	)	3.5	(	67	and	name	HA	)	( 67	and	name	HG2*	)	3.5
(	67	and	name	HG1*	)	(88	and	name	HA1	)	3.5	(	67	and	name	HG1*	)	(88	and	name	HA2	)	3.5
(	80	and	name	HA	)	(102	and	name	HG2*	)	5.0	(1	102	and	name	HA	)	(102	and	name	HG2*	)	2.7
(1	L02	and	name	HG2*	)	(102	and	name	HB	)	2.7	( ]	102	and	name	HG2*	)	(103	and	name	HA	)	5.0
(1	L02	and	name	HG2*	)	(116	and	name	HA	)	3.5	(1	102	and	name	HG2*	)	(116	and	name	HB1	)	5.0

(104	and	name	HA	)	(105	and	name	HG2*	)	3.5	(107	and	name	HA	)	(107	and	name	HB1	)	2.7
(107	and	name	HA	)	(107	and	name	HB2	)	2.7	(107	and	name	HA	)	(108	and	name	HD1	)	2.7
(107	and	name	HA	)	(112	and	name	HA	)	5.0	(107	and	name	HA	)	(113	and	name	HD1*	)	5.0
(107	and	name	HB1	)	(108	and	name	HD1	)	3.5	(107	and	name	HB1	)	(113	and	name	HG11	)	3.5
(107	and	name	HB1	)	(113	and	name	HD1*	)	3.5	(107	and	name	HB2	)	(108	and	name	HD1	)	3.5
(107	and	name	HB2	)	(113	and	name	HG11	)	3.5	(107	and	name	HB2	)	(113	and	name	HG12	)	3.5
(107	and	name	HB2	)	(113	and	name	HD1*	)	3.5	(108	and	name	HD1	)	(113	and	name	HD1*	)	5.0
(113	and	name	HB	)	(113	and	name	HD1*	)	3.5	(113	and	name	HG11	)	(113	and	name	HD1*	)	2.7
(113	and	name	HG12	)	(113	and	name	HD1*	)	2.7	(147	and	name	HA	)	(147	and	name	HG12	)	3.5
(147	and	name	HA	)	(147	and	name	HG2*	)	2.7	(154	and	name	HA	)	(154	and	name	HB1	)	3.5
(154	and	name	HA	)	(154	and	name	HB2	)	3.5	(154	and	name	HA	)	(155	and	name	HG*	)	5.0
(154	and	name	HA	)	(155	and	name	HD1	)	2.7	(154	and	name	HA	)	(155	and	name	HD2	)	3.5

## 10.5.1.3 Abstandsbeschränkungen aus dem <sup>15</sup>N-gefilterten 2D-NOESY

(	3	and	name	HD*	) (	(2)	and	name	HA	) 5.	0 (	3	and	name	HD* )	( 2	and	name	HG1*	) 5.0
i	3	and	name	HD*	i i	ં ર	and	name	НΔ	5	0	3	and	name	HD* )	i a	and	name	HB1	) 3 5
)	2	and	nomo	UD*	~ ~	2	and	nomo	100	) J.	5 (	2	and	nomo	UD* )	( 5	and	nomo	11D1 UF*	) 5.3
	5	ana	name	HD.			ana	name	пви	) 5.	5 (	5	ana	name	HD" )	(100	ana	name	HE"	) 5.0
(	3	and	name	HD*	) (	(120)	and	name	HA	) 5.	0 (	3	and	name	HD* )	(120	and	name	HBI	) 5.0
(	3	and	name	HD*	) (	(120	and	name	HB2	) 5.	0 (	3	and	name	HD* )	(127	and	name	HA	) 5.0
(	3	and	name	HD*	) (	(128	and	name	HB	) 3.	5 (	3	and	name	HD* )	(128	and	name	HG12	) 5.0
i	3	and	name	HD*	i i	128	and	name	HG2*	5	0	3	and	name	HD* )	(128	and	name	HD1 *	50
)	2	and	nomo	1112*	~ ~	(120	and	nomo	1102	) 5. \ E	0 1	2	and	nomo	11D /	(120	and	nomo	1101	) 5.0
	5	ana	Itallie	HE"		L L	and	name	HAL	) 5.	0 (	5	ana	name	HE" )		ana	name	HA	) 5.0
(	3	and	name	HE*	) (	( 3	and	name	HBT	) 5.	0 (	3	and	name	HE* )	(127	and	name	HA	) 5.0
(	3	and	name	HE *	) (	(128	and	name	HB	) 3.	5 (	3	and	name	HE* )	(128	and	name	HG2*	) 5.0
(	3	and	name	HE*	) (	(133	and	name	HG1*	) 5.	0 (	5	and	name	HD* )	( 5	and	name	HA	) 3.5
1	5	and	name	нD*	í í	5	and	name	HB1	2	7 0	5	and	name	нр* )	( 5	and	name	HB2	) 27
)	5	and	nomo			(110	and	nomo		) <u>2</u> .		5	and	nomo	IID /	(120	and	nomo	IIDZ	) 2.,
	5	ana	Itallie	нD	) (	( T T O	and	name	пв.	) 5.	0 (	2	ana	name	HD. )	(120	ana	name	HE."	) 3.5
(	5	and	name	HD*	) (	(133	and	name	HG1*	) 5.	0 (	5	and	name	HD* )	(133	and	name	HG2*	) 5.0
(	5	and	name	HE *	) (	(3	and	name	HB1	) 3.	5 (	5	and	name	HE* )	( 5	and	name	HB2	) 5.0
(	5	and	name	HE*	) (	120	and	name	HD*	) 3.	5 (	5	and	name	HE* )	(128	and	name	HD1*	) 5.0
7	5	and	nomo	UF *	Ś	(122	and	nomo	uC1*	) 5. ) 5	0 1	0	and	nomo	UD* )	(100	and	nomo		) 5.0
2	5	anu	Itallie	IID +		(133	and	Itallie	HGI	) 5.	0 (	2	anu	Itallie	HD )		anu	Itallie	пв	) 5.0
(	9	ana	name	HD^	) (	8	ana	name	HA	) 5.	0 (	9	and	name	HD^ )	( 9	ana	name	HA	) 5.0
(	9	and	name	HD*	) (	(9	and	name	HB1	) 3.	5 (	9	and	name	HD* )	(9	and	name	HB2	) 3.5
(	9	and	name	HD*	) (	(114)	and	name	HG2*	) 5.	0 (	9	and	name	HD* )	(114	and	name	HD1*	) 5.0
(	9	and	name	HD*	) i	116	and	name	HB1	5	0 0	9	and	name	HD* )	(141	and	name	НΔ	, 50
2	á	and	nomo	UD*		(111	and	nomo		) 5. \ 5	0 1	á	and	nomo	UE* )		and	nomo		) 2.6
		anu	Itallie	nD.		( 1 <del>1 1</del> 1	anu	Itallie	HD	, 5.	0 (	9	anu	Itallie	HE )	(11)	anu	Itallie	HD 11	) 3.2
(	9	and	name	HE*	) (	9	and	name	HB2	) 5.	0 (	9	and	name	HE* )	$(\perp \perp 4$	and	name	HGII	) 5.0
(	9	and	name	HE *	) (	(114	and	name	HG2*	) 5.	0 (	9	and	name	HE* )	(114	and	name	HD1*	) 5.0
(	19	and	name	HD*	) (	(19	and	name	HA	) 2.	7 (	19	and	name	HD* )	( 19	and	name	HB1	) 3.5
i	19	and	name	HD*	i i	19	and	name	HB2	5 2	7 0	19	and	name	HD* )	1 20	and	name	НΔ	50
)	10	and	nomo		~ ~	( 1)	and	nomo		) <u> </u>	0	10	and	nomo	IID * )	( 20	and	nomo	1101 *	) 3.0
	19	ana	Itallie	нD	) (		and	name	пви	) 5.	0 (	19	ana	name	HD. )	( 23	ana	name	HGI "	) 3.5
(	19	and	name	HD*	) (	(23	and	name	HG2*	) 5.	0 (	19	and	name	HD* )	(24	and	name	HD2*	) 5.0
(	19	and	name	HD*	) (	(76	and	name	HG1	) 5.	0 (	19	and	name	HD* )	(79	and	name	HB2	) 5.0
(	19	and	name	HD*	) (	(79	and	name	HD*	) 3.	5 (	19	and	name	HD* )	(79	and	name	HE*	) 5.0
1	19	and	name	нр*	1 i	104	and	name	HD2*	2	7 0	19	and	name	нг* )	( 19	and	name	HB1	) 5 C
)	10	and	manic	1112		( 101	and	manic	IID2	) <u> </u>	0	10	and	manic	11D /		and	manic	IIDI	, 5.0
(	19	and	name	HE ^	) (	19	and	name	HBZ	) 5.	0 (	19	and	name	HE )	(20	and	name	HA	) 5.0
(	19	and	name	HE*	) (	(23	and	name	HG1*	) 5.	0 (	19	and	name	HE* )	(24	and	name	HD2*	) 2.7
(	19	and	name	HE *	) (	(76	and	name	HA	) 2.	7 (	19	and	name	HE* )	(76	and	name	HG1	) 5.0
(	19	and	name	HE*	) (	76	and	name	HG2	) 3.	5 (	19	and	name	HE* )	(79	and	name	HB2	) 5.0
7	10	and	namo	UT *	í i	70	and	name	<u>ч</u> р*	5	0	10	and	namo	UE* )	( 80	and	namo	<u>ил</u>	) 5 0
)	10	and	name	1112 *		(104	and	name		) J.	E (	22	and	name	IID * )	( 00	and	name	117	) ) )
	19	ana	Itallie	HE"	) (	(104	and	name	HDZ."	) 3.	5 (	22	ana	name	HD." )		ana	name	HA	) 2.7
(	22	and	name	HD*	) (	(22	and	name	HBI	) 3.	5 (	22	and	name	HD* )	( 22	and	name	HB2	) 2.7
(	22	and	name	HD*	) (	(23	and	name	HG1*	) 3.	5 (	22	and	name	HD* )	(26	and	name	HA	) 5.0
(	22	and	name	HD*	) (	29	and	name	HG	) 5.	0 (	22	and	name	HD* )	( 29	and	name	HD2*	) 3.5
1	22	and	name	нD*	1 i	104	and	name	HD1*	5	0 1	22	and	name	нр* )	(147	and	name	нD1*	) 27
)	22	and	nomo			( 22	and	nomo		) 5.	0 1	22	and	nomo	UE* )	( 22	and	nomo		) 5 (
	22	ana	name	HE.			ana	name	на	) 5.	0 (	22	ana	name	HE" )	( 22	ana	name	HBZ	) 5.0
(	22	and	name	HE*	) (	102	and	name	нв	) 5.	0 (	22	and	name	HE* )	(102	and	name	HG2*	) 3.5
(	40	and	name	HD2	) (	( 40	and	name	HB1	) 3.	5 (	40	and	name	HD2 )	(40	and	name	HB2	) 5.0
(	40	and	name	HD2	) (	( 42	and	name	HB1	) 5.	0 (	40	and	name	HD2 )	( 42	and	name	HB2	) 5.0
(	40	and	name	HD2	) (	57	and	name	HB	5.	0	40	and	name	HD2	( 57	and	name	HG2*	) 3.5
7	10	and	nomo	1001	Ś	( 12	and	nomo	UD1	) 5. ) 5	0 1	10	and	nomo	UE1 )	( 57	and	nomo	uC2*	) 5.0
	40	ana	Itallie	ILL ILL		42	and	name	пві	) 5.	0 (	40	ana	name	HEL )	( 57	ana	name	HGZ"	) 5.0
(	45	ana	name	HDI	) (	45	ana	name	HA	) 5.	0 (	45	and	name	HDI )	(45	ana	name	HBT	) 5.0
(	45	and	name	HD1	) (	(45	and	name	HB2	) 5.	0 (	45	and	name	HD1 )	(53	and	name	HB	) 5.0
(	45	and	name	HD1	) (	(53	and	name	HG2*	) 5.	0 (	45	and	name	HD1 )	(53	and	name	HD1*	) 5.0
i	45	and	name	HE 3	) (	( 45	and	name	HA	) 5	0 0	45	and	name	HE3	( 45	and	name	HB1	) 5.0
)	15	and	nomo	1100	~ ~		and	nomo	1111	) 5. \ E	0 1	15	and	nomo	1100 )	1 16	and	nomo	1101	) 5.0
(	40	and	nalle	ur 3	. (	( 40	and	nalle	пви	/ <u>-</u> .	U (	45	ana	nalle	nь3 )	( 40	and	nalle	nal	, 5.0
(	45	and	name	HE3	) (	( 52	and	name	HA	) 5.	0 (	45	and	name	HE3 )	(53	and	name	HD1*	) 5.0
(	58	and	name	HD*	) (	(38	and	name	HG12	) 5.	0 (	58	and	name	HD* )	(38	and	name	HD1*	) 3.5
(	58	and	name	HD*	) (	(57	and	name	HA	) 5.	0 (	58	and	name	HD* )	(58	and	name	HA	) 3.5
1	58	and	name	нD*	í í	58	and	name	HB1	3	5 (	58	and	name	нр* )	( 58	and	name	HB2	) 3 5
)	50	and	nomo				and	nomo	IIDI	) J.		50	and	nomo	IID /		and	nomo	1102	) 5.3
	50	ana	Itallie	нD	) (	00	and	name	HA	) 5.	0 (	50	ana	name	HD. )	( 0/	ana	name	HG1 "	) 5.0
(	58	and	name	HD*	) (	( 67	and	name	HG2*	) 5.	0 (	58	and	name	HE* )	(38	and	name	HG12	) 5.0
(	58	and	name	HE*	) (	(38	and	name	HD1*	) 2.	7 (	58	and	name	HE* )	(57	and	name	HA	) 5.0
(	58	and	name	HE*	) (	(58	and	name	HA	) 5.	0 (	58	and	name	HE*	(58	and	name	HB1	) 5.0
1	5.8	and	name	HE*	j i	65	and	name	HA2	5	0	5.8	and	name	HE* )	1 66	and	name	НА –	) 5 0
2	EO	220	nome	 UF*		67	and	nome	U7	,	0 1	FO	and	nome	/ UF* \	1 67	222	nome	UD	, 5.0
(	58	and	name	пь	, (	0/	and	name	пA	, 5.	U (	50	and	name	пь)	(0/	and	name	пв	, 5.0
(	58	and	name	HE*	) (	67	and	name	HG1*	) 2.	7 (	58	and	name	не* )	(67	and	name	HG2*	) 2.7
(	64	and	name	HD*	) (	(57	and	name	HG2*	) 5.	0 (	64	and	name	HD* )	(64	and	name	HA	) 3.5
(	64	and	name	HD*	) (	(64	and	name	HB1	) 3.	5 (	64	and	name	HD*	(64	and	name	HB2	) 3.5
i	64	and	name	HD*	j i	65	and	name	HN	) 5	0 0	64	and	name	HD*	( 65	and	name	HA2	) 5 (
)	66	and	name	чр*		. 53	and	name	<u>шл</u>	, J.	0 1	66	and	name	/	1 66	and	name	цл	, 5.0 ) E 0
(	00	and	nalle	un.	. (	51	and	nalle	riA UD /	/ 2.	U (	00	ana	nalle	п)	( 00	and	nalle	riA UD 0	, 5.0
(	66	and	name	нр*	) (	66	and	name	нв*	, 3.	э (	66	and	name	нв")	(64	and	name	нви	) 3.5
(	66	and	name	HE*	) (	(67	and	name	HA	) 5.	0 (	66	and	name	HE* )	(87	and	name	HB2	) 5.0
(	69	and	name	HD2	) (	(56	and	name	HB	) 5.	0 (	69	and	name	HD2 )	(56	and	name	HD1*	) 5.0
ì	69	and	name	HD2	ji	67	and	name	НА	) 5	0 1	69	and	name	HD2 1	( 67	and	name	HB	) 5 (
		~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~				、 U /	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~			, .	- 1		~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~		)	, 07	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~			,

$(69 \text{ and name HD2})$ $(67 \text{ and name HG1}^*)$ 5.0 $(69 \text{ and}$	
(6) and name HD2 (6) and name HA 25 (60 and	name HD2 ) (67 and name HG2* ) 3 P
	$\frac{1}{2} = \frac{1}{2} = \frac{1}$
( 09 and name HDz ) ( 09 and name HA ) 3.5 ( 09 and	name HD2 ) ( 69 and name HB1 ) 5.0
(69 and name HD2) (69 and name HB2) 5.0 (69 and	name HD2 ) (83 and name HD* ) 5.(
	A name UD2 ) ( 95 and name UD1 ) E (
( 09 and name HDz ) ( 05 and name HA ) 3.5 ( 09 and	
(69 and name HD2) (85 and name HD1*) 2.7 (69 and	d name HD2 ) ( 85 and name HD2* ) 5.0
(69  and name HE) $(56  and name HD)*$ $(59  and$	f name HF1 ) (67 and name HG2*) 5 (
$(69 \text{ and name HEL})$ $(83 \text{ and name HD}^*)$ 5.0 $(69 \text{ and}$	i name HEL ) ( 83 and name HE* ) 3.5
(69 and name HE1) (85 and name HD1*) 5.0 (79 and	name HD* ) (16 and name HA ) 5.(
(70  and name IID) $(16  and name IIC)$ $(70  and  100)$	$\frac{1}{2}$ name $\frac{1}{2}$ ) (10 and name $\frac{1}{2}$ ) E (
( /9 and name HD" ) ( 16 and name HG" ) 5.0 ( /9 and	
(79 and name HD*) (19 and name HB2) 5.0 (79 and	l name HD* ) ( 76 and name HA ) 5.0
$(79 \text{ and name } \text{WD}^*)$ $(78 \text{ and name } \text{W})$ $(79 \text{ and}$	Thame UD* (79 and hame UN) 3 F
(7) and name ind (7) and name ind (7) and	
(79 and name HD*) (79 and name HB1) 3.5 (79 and	d name HD* ) ( 79 and name HB2 ) 3.5
$(79 \text{ and name } \text{WD}^*)$ $(104 \text{ and name } \text{WD}^{1*})$ 50 $(79 \text{ and}$	$\frac{1}{2}$ name $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{1}$
(79 and name HE*) (16 and name HA) 3.5 (79 and	1 name HE* ) ( 16 and name HBI ) 5.0
$(79 \text{ and name HE}^{*})$ $(16 \text{ and name HB}^{2})$ 5.0 $(79 \text{ and}$	f name HE* ) (16 and name HG* ) 5 (
	1  name III  ( 10 and name IIC ) 5.0
( /9 and name HE <sup>*</sup> ) ( 16 and name HDI ) 5.0 ( /9 and	I hame HE" ) ( IO and hame HDZ ) 5.0
(79 and name HE*) (19 and name HB2) 5.0 (79 and	name HE* ) (77 and name HA ) 5.0
(91  and name UD +) $(22  and name UC +)$ $2.7$ $(91  and$	A name UD* ) ( 22 and name UC2* ) 2 5
( of and name HD <sup>-</sup> ) ( 25 and name HG <sup>-</sup> ) 2.7 ( of and	
(81 and name HD*) (74 and name HA) 5.0 (81 and	d name HD* ) (74 and name HB ) 5.0
$(81 \text{ and name HD}^*)$ $(74 \text{ and name HG}11)$ 5.0 $(81 \text{ and}$	name HD* ) (74 and name HG12 ) 3.5
	$1 \rightarrow 1 \rightarrow$
(81 and name HD <sup>*</sup> ) (74 and name HG2 <sup>*</sup> ) 3.5 (81 and	a name HD* ) ( /4 and name HDI* ) 3.5
(81 and name HD*) (81 and name HA) 2.7 (81 and	1 name HD* ) ( 81 and name HB1 ) 2.7
$(91 \text{ and } \text{name } \text{UD}^{*})$ $(91 \text{ and } \text{name } \text{UD}^{2})$ $2.7$ $(91 \text{ and } \text{name } \text{UD}^{2})$	$\frac{1}{2}$ name $\frac{1}{2}$
( of and name HD ) ( of and name HD2 ) 2.7 ( of and	
(81 and name HD*) (83 and name HE*) 5.0 (81 and	d name HE* ) (23 and name HB ) 5.0
$(81 \text{ and name HE}^*)$ $(23 \text{ and name HG}^*)$ 50 $(81 \text{ and})$	f name HF* ) (71 and name HG11 ) 5 (
( ) and name HE ( ) ( 2) that have HE ( ) 5.0 ( ) 1 and	$\frac{1}{2} = \frac{1}{2} = \frac{1}$
(SI and name HE^) (/I and name HG12) 5.0 (81 and	I Hame HEA ) ( /I and hame HG2* ) 3.5
(81 and name HE*) (71 and name HD1*) 3.5 (81 and	name HE* ) (74 and name HB ) 5 (
(9) and name HEX (74 and name HD1+) 2.5 (9) and	$1 \text{ nome } \text{HE}^*$ ) ( 01 and name $\text{HE}^*$ ) 5.0
(or and name HE" ) ( /4 and name HD1^ ) 3.5 ( 81 and	, name ne ( ) ( of and name HA ) 5.0
(81 and name HE*) (83 and name HB*) 5.0 (81 and	i name HE* ) ( 83 and name HD* ) 3.5
(81 and name $HF*$ ) (82 and name $HF*$ ) 2 5 (82 and	name HD* ) ( 82 and name HD ) E (
( 01 and name me ) ( 05 and name me ) 5.5 ( 83 and	
(83 and name HD*) (83 and name HA) 5.0 (83 and	$\alpha$ name HD* ) ( 83 and name HB1 ) 3.5
(83 and name HD*) (83 and name HB?) 35 (82 and	name HE* ) ( 85 and name HD2* ) 5 (
( 0) and name ID / ( 0) and name ID2 / 5.5 ( 0) all	1  mane IIII  ( 0.5 and fiame IID2 ) 5.0
( \$3 and name HE^ ) (100 and name HB1 ) 5.0 ( 83 and	л name ны^) (IUU and name HB2) 5.0
$(100 \text{ and name HD}^*)$ (83 and name HD*) 5.0 (100 and	name HD* ) (83 and name HE* ) 5.(
(100 and name HD* ) ( 85 and name HP1 ) 5.0 (100 and	f name $UD*$ ) (95 and name $UD1*$ ) 5 (
(100 and name HD ) ( 65 and name HB1 ) 5.0 (100 and	
(100 and name HD* ) (85 and name HD2*) 5.0 (100 and	d name HD* ) ( 98 and name HG12 ) 5.0
$(100 \text{ and name HD}^*)$ (98 and name HG2*) 5.0 (100 and	f name HD* ) (98 and name HD1*) 5 (
(100  and name inb) $(100  and name inc)$ $(100  and name inc)$	
(100 and name HD* ) (100 and name HA ) 5.0 (100 and	a name HD* ) (100 and name HBI ) 3.5
(100 and name HD* ) (100 and name HB2 ) 3.5 (100 and	name HD* ) (118 and name HA ) 5.(
$(100 \text{ and name HD}^*)$ $(118 \text{ and name HB}^*)$ 3.5 $(100 \text{ and})$	$f$ name $\Psi F \star$ ) (83 and name $\Psi D \star$ ) 5 (
(100 and name HD <sup></sup> ) (116 and name HB <sup></sup> ) 3.5 (100 and	
(100 and name HE* ) (83 and name HE* ) 5.0 (100 and	d name HE* ) ( 85 and name HDl* ) 3.5
$(100 \text{ and name HE}^*)$ (98 and name HG2*) 3.5 (100 and	name HE* ) (98 and name HD1*) 5.(
(100  and name Hz) $(100  and name Hz)$ $(100  and name Hz)$	1  mane met ) ( )0 and mane met ) 5.0
(100 and name HE* ) (100 and name HA ) 5.0 (100 and	a name HEA ) (100 and name HBI ) 5.0
(100 and name HE* ) (100 and name HB2 ) 5.0 (100 and	1 name HE* ) (118 and name HA ) 5.0
$(100 \text{ and name } \text{HF}^*)$ $(118 \text{ and name } \text{HF}^*)$ 5.0 $(119 \text{ and}$	P name UD2 ) ( A and name UC2* ) 5 (
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and	$1 \text{ name HD2}$ ) ( $4 \text{ and name HG2}^*$ ) 5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) ( 99 and name HB1 ) 3.5 (119 and	d name HD2 ) ( 4 and name HG2* ) 5.0 d name HD2 ) ( 99 and name HB2 ) 3.5
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and	d name HD2 ) ( 4 and name HG2* ) 5.0 d name HD2 ) ( 99 and name HB2 ) 3.5 d name HD2 ) (117 and name HG2* ) 5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and	d name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         l name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         l name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         l name HD2       )       (117 and name HG2*)       3.5
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and	1 name HD2       )       (       4 and name HG2*       )       5.0         1 name HD2       )       (       99 and name HB2       )       3.5         1 name HD2       )       (       117 and name HG2*       )       5.0         1 name HD2       )       (       117 and name HG2*       )       5.1         1 name HD2       )       (       119 and name HG2*       )       3.5
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and 119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and 119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and 119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and 119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and 119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and 119 an	d name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         d name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         d name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         d name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HC2 ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (119 and name HC2 ) (119 an	1 name HD2       )       (       4 and name HG2*       )       5.0         1 name HD2       )       (       99 and name HB2       )       3.5         1 name HD2       )       (       117 and name HG2*       )       5.0         1 name HD2       )       (       117 and name HG2*       )       5.0         1 name HD2       )       (       119 and name HB1       )       3.5         1 name HE1       )       (       4 and name HB1       )       5.0         2 name HE1       )       (       6 and name HB2       )       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 an	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB)       5.0         I name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and	d name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         d name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         d name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         d name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         d name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         d name HE1       )       (3 and name HB1)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HB* ) 5.0 (120 and name HD* ) (120 and	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (7 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (7 and name HB1)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HAA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (30 and name HC2* ) 5.0 (120 and (1	d name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         d name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         d name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         d name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         d name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         d name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         d name HD*       )       (98 and name HB12)       5.0
$ \begin{array}{c} (100 \text{ and name } \text{HE}^{\star} \ ) \ (118 \text{ and name } \text{HB}^{\star} \ ) \ 5.0 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) \ (99 \text{ and name } \text{HB1} \ ) \ 3.5 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) \ (100 \text{ and name } \text{HB1} \ ) \ 3.5 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) \ (100 \text{ and name } \text{HA} \ ) \ 5.0 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) \ (118 \text{ and name } \text{HA} \ ) \ 5.0 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) \ (118 \text{ and name } \text{HA} \ ) \ 5.0 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) \ (119 \text{ and name } \text{HA} \ ) \ 5.0 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) \ (119 \text{ and name } \text{HB2} \ ) \ 5.0 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HE1} \ ) \ (119 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) \ 2.7 \ (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and} \text{ name } \text{HE1} \ ) \ (117 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) \ 2.7 \ (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) \ (98 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) \ 5.0 \ (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and} \text{ name } \text{HD}^{\star} \ ) \ (98 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) \ 5.0 \ (120 \text{ and} \ )	d name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         d name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         d name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         d name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         d name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         d name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         d name HE1       )       (6 and name HB1)       5.0         d name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         d name HD*       )       (98 and name HD12)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HD* ) (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HD* ) (120 and (120 an	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (7 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HB1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HA*)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (119 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HAA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       5.0         I name HE1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HG12)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HAA)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HAA)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and (120 and name HD* ) (120 and (1	I name HD2       )       (       4 and name HG2*       )       5.0         I name HD2       )       (       99 and name HB2       )       3.5         I name HD2       )       (       117 and name HB2       )       5.0         I name HD2       )       (       117 and name HB2       )       5.0         I name HD2       )       (       119 and name HB1       )       3.5         I name HD1       )       (       4 and name HB1       )       5.0         I name HE1       )       (       4 and name HB2       )       5.0         I name HD4       )       (       6 and name HB2       )       5.0         I name HD*       )       (       98 and name HB1       )       5.0         I name HD*       )       (       98 and name HD1*       )       5.0         I name HD*       )       (       120 and name HA       )       5.0         I name HD*       )       (       120 and name HB2       )       2.0
$ \begin{array}{c} (100 \text{ and name } \text{HE}^{\star} \ ) (118 \text{ and name } \text{HB}^{\star} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (99 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 3.5 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (100 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 3.5 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (100 \text{ and name } \text{HA} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (110 \text{ and name } \text{HA} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (118 \text{ and name } \text{HA} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (119 \text{ and name } \text{HB2} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (119 \text{ and name } \text{HB2} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HE1} \ ) (4 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (13 \text{ and name } \text{HB2} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (119 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (120 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 3.5 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (120 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 3.5 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and} \text{ and} \ \text{Ame } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \ ) 3.5 & (120 \text{ and} \$	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (6 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HAA)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HA ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HD* ) (120 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HG2* ) 5.0	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HE1       )       (6 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (7 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HA1)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         I name HD*       )       (128 and name HB12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HE1$ ) (4 and name $HG2^*$ ) 2.7 (119 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (98 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HAA$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG11$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HD^*$ ) (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.0         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0
$ \begin{array}{c} (100 \text{ and name } \text{HE}^{\star} \ ) (118 \text{ and name } \text{HB}^{\star} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (99 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 3.5 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (100 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 3.5 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (100 \text{ and name } \text{HA} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (110 \text{ and name } \text{HA} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (118 \text{ and name } \text{HA} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (119 \text{ and name } \text{HA} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (119 \text{ and name } \text{HB2} \ ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} \ ) (119 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) 2.7 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HE1} \ ) (117 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (3 \text{ and name } \text{HB2} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (120 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (120 \text{ and name } \text{HB1} \ ) 3.5 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (128 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (132 \text{ and name } \text{HG1} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (132 \text{ and name } \text{HE1} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (132 \text{ and name } \text{HE1} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (132 \text{ and name } \text{HE1} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (132 \text{ and name } \text{HE1} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (132 \text{ and name } \text{HE1} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} \ ) (132 \text{ and name } \text{HE1} \ ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and} name & \text{HD}^{\star} \ )$	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         I name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HE1 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HE1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HD* ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HE1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HE1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HE1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HE1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (132 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE*	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (7 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HG12)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HA2)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.0         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0         I name HE*       )       (98 and name HG2*)       5.0
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (117 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HE1$ ) (4 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HB2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HE1$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HE1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (120 and name $HC1^*$ ) 3.5 (120	I name HD2       (       4 and name HG2*       5.0         I name HD2       (       99 and name HB2       3.5         I name HD2       (       117 and name HB2       3.5         I name HD2       (       117 and name HB2       3.5         I name HD2       (       (117 and name HB2       3.5         I name HD2       (       (119 and name HB1       3.5         I name HE1       (       4 and name HB1       5.0         I name HE1       (       6 and name HB2       5.0         I name HD*       (       3 and name HB1       5.0         I name HD*       (       98 and name HB1       5.0         I name HD*       (       120 and name HD1*       5.0         I name HD*       (       120 and name HB2       5.0         I name HD*       (       120 and name HB2       2.7         I name HD*       (       128 and name HB1       3.5         I name HD*       (       128 and name HG2       3.5         I name HD*       (       128 and name HG2*       5.0         I name HE*       (       118 and name HB2       5.0         I name HE*       (       118 and name HB*       3.5 </td
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (110 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HE1$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG11$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HE^*$ ) (128 and name $HE^*$ ) (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 a	I name HD2       )       (       4       and name HG2*       )       5.0         I name HD2       )       (       99       and name HB2       )       3.5         I name HD2       )       (       117       and name HB2       )       3.5         I name HD2       )       (       117       and name HB2       )       3.5         I name HD2       )       (       119       and name HB1       )       3.5         I name HD1       )       (       4       and name HB1       )       5.0         I name HD4       )       (       3       and name HB2       )       5.0         I name HD*       )       (       98       and name HB1       )       5.0         I name HD*       )       (       98       and name HD1*       )       5.0         I name HD*       )       (       120       and name HD2       )       5.0         I name HD*       )       (       120       and name HD2       )       5.0         I name HD*       )       (       128       and name HD1*       )       5.0         I name HD*       )       (       128       <
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG1) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         I name HD4       )       (6 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (98 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (98 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG2*
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (110 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HE1$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG11$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HC1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HC1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HC1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HC1^*$ ) 5.	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD1       )       (4 and name HB1)       5.0         I name HE1       )       (6 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         I name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         I name HE*       )       (128 and name
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (119 and (119 and name $HE1$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) (123 and name $HD^*$ ) (124 and name $HD^*$ ) (124 and name $HD^*$ ) (125 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) (123 and name $HD^*$ ) (124 and name $HD^*$ ) (125 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) (124 and name $HD^*$ ) (125 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) (124 and name $HD^*$ ) (125 and name $HD^*$ ) (126 and name $HD^*$ ) (127 and name $HD^*$ ) (129 and name $HD^*$ ) (120 and name $HD^*$ ) (120 and name	I name HD2       (       4       and name HG2*       )       5.0         I name HD2       (       99       and name HB2       )       3.5         I name HD2       )       (117       and name HB2       )       3.5         I name HD2       )       (117       and name HB2       )       5.0         I name HD2       )       (119       and name HB2       )       5.0         I name HD2       )       (119       and name HB1       )       3.5         I name HE1       )       (       4       and name HB2       )       5.0         I name HD*       )       (       3       and name HB2       )       5.0         I name HD*       )       (       98       and name HD1*       )       5.0         I name HD*       )       (       120       and name HB2       2.7       3.5         I name HD*       )       (       120       and name HB2       2.7       3.5         I name HD*       )       (       128       and name HG12       3.5       5.0         I name HD*       )       (       128       and name HG2       5.0         I name HE*
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (110 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (98 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HB1$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2^*$ ) (98 and name $HA^*$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2^*$ ) (98 and name $HA^*$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2^*$ ) (98 and name $HA^*$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2^*$ ) (98 and name $HA^*$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2^*$ ) (128 and name $HA^*$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2^*$ ) (128 and name $HA^*$ ) 3.5 (	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (120 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (6 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (118 and name HG12)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         I name HD*       )       (128 and name HB1*)       5.0         I name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0         I name HE*       )       (98 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (122 and name HG1*)       5.0         I name HE*       )       (132 and name HG1*)       5.0         I name HD2       )       (2 and name HG1*)
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (110 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HE1$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG11$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (123 and name $HB1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (98 and name $HA$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (99 and name $HB^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD^*$ ) (121 and name $HD^*$ ) 5.0 (121 and (121 and n	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2*)       5.0         a name HD2       )       (117 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       5.0         a name HE1       )       (4 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HB2)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG1*
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (117 and name $HB2$ ) 2.7 (119 and (119 and name $HE1$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (198 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (118 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (98 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (123 and name $HD1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (98 and name $HA$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (98 and name $HA$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HA$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HA$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HA$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HA$ ) 5.0 (121 and	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         I name HE*       )       (122 and name HG12)       5.0         I name HE*       )       (122 and name HG12)       5.0         I name HD2       )       (2 and name HG1
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HB2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HE1       )       (4 and name HB1)       3.5         I name HE1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HB2)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG1*) </td
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HE1$ ) (4 and name $HG2^*$ ) 2.7 (119 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (98 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG11$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (98 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (123 and name $HD1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (99 and name $HA$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HA$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HE1$ ) (119 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HE1$ ) (119 and nam	I name HD2       (       4       and name HG2*       )       5.(         I name HD2       (       99       and name HB2       )       3.5         I name HD2       )       (117       and name HB2       )       5.(         I name HD2       )       (117       and name HB2       )       5.(         I name HD2       )       (119       and name HB1       )       3.5         I name HD2       )       (119       and name HB2       )       5.(         I name HD4       )       (       3       and name HB2       )       5.(         I name HD*       )       (       3       and name HB1       )       5.(         I name HD*       )       (       98       and name HD1*       )       5.(         I name HD*       )       (       128       and name HG12       3.5         I name HD*       )       (       128       and name HG12       3.5         I name HD*       )       (       128       and name HG2*       5.(         I name HD*       )       (       128       and name HG2*       5.(         I name HE*       )       (       128       <
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (110 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HA2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (132 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HD1^*$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (123 and name $HB1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (99 and name $HB2$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (122 and name $HD2$ ) (121	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         a name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HG12)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG1*)       5.0         a name HE*       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG2*)       5.0         a name HD2       (2 and name HG1*)       5.0<
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	I name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         I name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         I name HD1       )       (4 and name HB2)       5.0         I name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         I name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         I name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         I name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         I name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         I name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         I name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         I name HD2       )       (120 and name HG
(100 and name $HE^*$ ) (118 and name $HB^*$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (99 and name $HB1$ ) 3.5 (119 and (119 and name $HD2$ ) (100 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (110 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (118 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HA$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (119 and (119 and name $HD2$ ) (117 and name $HG2^*$ ) 2.7 (119 and (119 and name $HE1$ ) (4 and name $HG2^*$ ) 2.7 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (3 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (120 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HB1$ ) 3.5 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG2^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HD^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (120 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (120 and name $HE^*$ ) (128 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HE^*$ ) (123 and name $HG1^*$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (99 and name $HB2$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HA$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 5.0 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 5.0 (122 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 5.0 (122 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 3.5 (121 and (121 and name $HD2$ ) (121 and name $HB2$ ) 5.0 (132 and (132 and name $HE1$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (132 and (132 and name $HE1$ ) (119 and name $HB2$ ) 5.0 (132 and (132 and name $HE1$ ) (133 and name $HD1^*$ ) 5.0 (132 and (132 and name $HE1$ ) (133 and name $HD1^*$ ) 5.0 (132 and	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HE1       )       (4 and name HB1)       5.0         a name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HG12)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (98 and name HG1*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HD1* ) 5.0 (134 and (134 and name HD2 )	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HG12)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HA2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (110 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HE1 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (1	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD1       )       (4 and name HB1)       5.0         a name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)
	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HA1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)<
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (119 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HG1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (14	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HE1       )       (4 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (18 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HD1* ) 5.0 (132 and (134 and name HD* ) (144 and name HD* )	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA1 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (134 and name HD* ) (144 and name HD4 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD4 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (129 and name HB2)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 2.7 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD1       )       (4 and name HB1)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (118 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (144 and name HD* ) (114 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD2 ) (124 and name HD2 ) (144 an	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HA2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (1131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HG2* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 a	aname HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         aname HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         aname HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         aname HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         aname HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         aname HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         aname HD2       )       (120 and name HB1)       5.0         aname HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         aname HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         aname HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         aname HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         aname HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         aname HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         aname HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         aname HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         aname HE*       )       (120 and name HG12)       5.0         aname HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         aname HD2       )       (2 and name HG1*)
	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       5.0         a name HE1       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (119 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and n	aname HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         aname HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         aname HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         aname HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         aname HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         aname HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         aname HD1       )       (4 and name HB1)       5.0         aname HD*       )       (3 and name HB2)       5.0         aname HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         aname HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         aname HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         aname HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         aname HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         aname HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         aname HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         aname HE*       )       (120 and name HG12)       5.0         aname HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         aname HD2       )       (120 and name HG1*) <td< td=""></td<>
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (123 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 2.7 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       5.0         a name HD1       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (78 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG1
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (119 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG2* ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD*	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD1       )       (4 and name HB2)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HA1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (98 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA1 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA1 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG1) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG1) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (123 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG* ) 5.0 (132 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (14	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (4 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name H
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (110 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 an	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (7 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         a name HD*       )       (128 and name HB2)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (98 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB3 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB4 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB1 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG* ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG* ) 5.0 (132 and (144 and name HD* ) (144 and name HG* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (147 and name HB2 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (147 and name HB2 ) 3.5 (150 and (150 and name HD* ) (147 an	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD2       )       (121 and name
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (119 and (119 and name HD* ) (13 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (13 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (13 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HG1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (1	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HE*       )       (18 and name HG2*)       5.0         a name HE*       )       (122 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG1*)<
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HC1 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HC1 ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HC1 ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HC1 ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HC1 ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HC1 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (144 and (150 and name HD* ) (150 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (150 and name H	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (7 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)
$ \begin{array}{c} (100 \text{ and name } \text{HE}^{\star} ) (118 \text{ and name } \text{HB}^{\star} ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} ) (99 \text{ and name } \text{HA} ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} ) (100 \text{ and name } \text{HA} ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} ) (118 \text{ and name } \text{HA} ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} ) (119 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD2} ) (119 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (119 \text{ and} \\ (119 \text{ and name } \text{HD1} ) ( 4 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} ) (19 \text{ and name } \text{HG2}^{\star} ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} ) (19 \text{ and name } \text{HA} ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} ) (119 \text{ and name } \text{HA} ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} ) (120 \text{ and name } \text{HB1} ) 3.5 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} ) (128 \text{ and name } \text{HG1} ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} ) (128 \text{ and name } \text{HG1} ) 2.7 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HD}^{\star} ) (128 \text{ and name } \text{HG1} ) 3.5 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HE}^{\star} ) (128 \text{ and name } \text{HD1}^{\star} ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HE}^{\star} ) (128 \text{ and name } \text{HD1}^{\star} ) 5.0 & (120 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HE}^{\star} ) (128 \text{ and name } \text{HD1}^{\star} ) 5.0 & (121 \text{ and} \\ (120 \text{ and name } \text{HE}^{\star} ) (128 \text{ and name } \text{HD1}^{\star} ) 5.0 & (121 \text{ and} \\ (121 \text{ and name } \text{HD2} ) (99 \text{ and name } \text{HB1} ) 3.5 & (121 \text{ and} \\ (121 \text{ and name } \text{HD2} ) (121 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (121 \text{ and} \\ (121 \text{ and name } \text{HD2} ) (121 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (121 \text{ and} \\ (121 \text{ and name } \text{HD2} ) (121 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (121 \text{ and} \\ (132 \text{ and name } \text{HD2} ) (121 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (121 \text{ and} \\ (132 \text{ and name } \text{HD2} ) (121 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (122 \text{ and} \\ (132 \text{ and name } \text{HD2} ) (121 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 & (132 \text{ and} \\ (132 \text{ and name } \text{HD2} ) (131 \text{ and name } \text{HB2} ) 5.0 $	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.7         a name HD*       )       (128 and name HB1*)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HD1*)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (13 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (19 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (19 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HD1 * ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG4 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD4 ) (144 and name HD4 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 )	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*
	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (118 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (122 and name
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) ( 4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) ( 3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) ( 98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (132 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (122 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HA ) 5.0 (144 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD*	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HD1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (98 and name HD1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HD1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD1 ) (114 and name HG2* ) 5.0 (132 and (132 and name HD1 ) (114 and name HG2* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (118 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (22 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (22 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (122 and name
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HB1 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (117 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG1* ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG2* ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (134 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (132 and name HB2 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) ( 4 and name HG2* ) 2.7 (110 and (120 and name HD* ) ( 98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) ( 98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HG1 * ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (99 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG2 * ) 5.0 (132 and (134 and name HD2 ) (134 and name HD1 * ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 2.7 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 2.7 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1 * ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 2.7 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HB2 ) 3.5 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HB1 ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (151 and name HB2 ) 3.5 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.0         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (122 and
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (1 4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (18 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (119 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HB1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 3.5 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (132 and (132 and name HE1 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HA ) 5.0 (132 and (132 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HA ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE1       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (2 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (121 and name
(100 and name HE* ) (118 and name HB* ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (99 and name HB1 ) 3.5 (119 and (119 and name HD2 ) (100 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (118 and name HA ) 5.0 (119 and (119 and name HD2 ) (119 and name HB2 ) 5.0 (119 and (119 and name HE1 ) (4 and name HG2* ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (3 and name HB2 ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (98 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (120 and name HB1 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG2* ) 5.0 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 2.7 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HD* ) (128 and name HG11 ) 3.5 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (120 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (120 and name HE* ) (128 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (98 and name HG1* ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HA ) 5.0 (121 and (121 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (121 and name HB2 ) 5.0 (132 and (132 and name HD2 ) (131 and name HG1* ) 5.0 (132 and (132 and name HD* ) (144 and name HD* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (144 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (147 and name HD1* ) 5.0 (144 and (144 and name HD* ) (132 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HB1 ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HA ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (151 and name HD1* ) 5.0 (150 and (150 and name HD* ) (155	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (3 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HD1*)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       2.2.7         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       5.0         a name HE*       )       (132 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG12)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (122 and
	a name HD2       )       (4 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (99 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (117 and name HB2)       3.5         a name HD2       )       (119 and name HB2)       5.0         a name HD2       )       (119 and name HB1)       3.5         a name HD2       )       (4 and name HB2)       5.0         a name HD4       )       (6 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (98 and name HB1)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HB2)       5.0         a name HD*       )       (120 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG12)       3.5         a name HD*       )       (128 and name HG2*)       5.0         a name HD2       )       (122 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (120 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (121 and name HG1*)       5.0         a name HD2       )       (122 and name H

(150	and	name	HE*	)	(157	and	name	HB*	)	2.7	(150	and	name	HE*	)	(158	and	name	HE*	)	2.7
(154	and	name	HD2	ý	(150	and	name	HA	ĵ.	5.0	(154	and	name	HD2	ý	(153	and	name	HA1	ĵ.	5.0
(154	and	name	HD2	)	(154	and	name	HA	)	5.0	(154	and	name	HD2	)	(154	and	name	HB1	)	5.0
(154	and	name	HD2	)	(154	and	name	HB2	)	5.0	(154	and	name	HD2	)	(157	and	name	HB*	)	5.0
(154	and	name	HE1	)	(150	and	name	HA	)	5.0	(158	and	name	HD*	)	( 20	and	name	HB1	)	5.0
(158	and	name	HD*	)	( 20	and	name	HD*	)	5.0	(158	and	name	HD*	)	(158	and	name	HA	)	3.5
(158	and	name	HD*	)	(158	and	name	HB1	)	2.7	(158	and	name	HD*	)	(158	and	name	HB2	)	2.7
(158	and	name	HE*	)	( 20	and	name	HB1	)	5.0	(158	and	name	HE*	)	( 21	and	name	HA	)	5.0
(158	and	name	HE*	)	( 21	and	name	HB*	)	3.5	(158	and	name	HE*	)	( 25	and	name	HB2	)	3.5
(158	and	name	HE*	)	(29	and	name	HD1*	)	3.5	(158	and	name	HE*	)	(29	and	name	HD2*	)	5.0
(158	and	name	HE*	)	(151	and	name	HD2*	)	3.5	(158	and	name	HE*	)	(157	and	name	HB*	)	3.5
(158	and	name	HE*	)	(158	and	name	HB1	)	5.0	(158	and	name	HE*	)	(158	and	name	HB2	)	5.0
(158	and	name	HE*	)	(159	and	name	HB1	)	5.0											

### 10.5.1.4 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten

( 1	and	namo	C	)	1 2	and	namo	N	)	(	2	and	namo	CA	)	1 2	and	namo	C	) 10	_120	40
	and	manic	ä	(		ana	manic	11	(	ì	2	and	manic	CA a	(		and	manic	c a	) 10	100	10
( 4	and	name	C	)	( 5	and	name	IN	)	(	5	and	name	ĊA	)	( 5	and	name	C	) 10	-120	40
(5	and	name	С	)	(6	and	name	Ν	)	(	6	and	name	CA	)	( 6	and	name	С	) 10	-120	40
( 6	and	name	С	)	( 7	and	name	Ν	)	(	7	and	name	CA	)	( 7	and	name	С	) 10	-120	40
<i>i</i> 7	and	name	C	ý	<i>i</i> 8	and	name	N	j	i	8	and	name	CA	j	1 8	and	name	C	10	-120	40
ìò	and	nomo	c	Ś	ìõ	and	nomo	NT		ì	ä	and	nomo	CA	Ś	ìà	and	nomo	c	10	120	10
( 0	anu	Itallie	C	(	( )	anu	name	11	,	Ç	10	anu	Itallie	CA	(	( )	anu	Itallie	Č	) 10	-120	40
( 9	and	name	C	)	( 10	and	name	N	)	(	10	and	name	ĊA	)	( 10	and	name	C	) 10	-120	40
( 10	and	name	С	)	( 11	and	name	Ν	)	(	11	and	name	CA	)	( 11	and	name	С	) 10	-120	40
( 17	and	name	С	)	( 18	and	name	Ν	)	(	18	and	name	CA	)	( 18	and	name	С	) 10	-60	20
(18	and	name	С	ý	(19	and	name	N	j	i	19	and	name	CA	j	( 19	and	name	С	j 10	-60	20
( 10	and	nomo	c	Ś	1 20	and	nomo	NT.	Ś	ì	20	and	nomo	CA	Ś	1 20	and	nomo	c	1 10	60	20
( 19	anu	Italle	č	(	( 20	anu	Itallie	11	(	Ş	20	and	Italle	CA	(	( 20	and	Itallie	č	) 10	-00	20
( 20	and	name	C	)	( 21	and	name	IN	)	(	21	and	name	ĊA	)	( 21	and	name	C	) 10	-60	20
(22	and	name	С	)	(23	and	name	Ν	)	(	23	and	name	CA	)	(23	and	name	С	) 10	-120	40
(23	and	name	С	)	(24	and	name	Ν	)	(	24	and	name	CA	)	(24	and	name	С	) 10	-60	20
(26	and	name	С	ý	(27	and	name	Ν	j	i	27	and	name	CA	j	( 27	and	name	С	) 10	-60	20
1 32	and	namo	ĉ	Ń	1 22	and	namo	N	Ś	ì	22	and	namo	CA	ý	1 22	and	namo	ĉ	) <u>10</u>	-60	20
( 26	and	name	ä	(	( ))	and	name	IN NT			22	and	name	CA CA		( ))	and	name	a	) 10	1 2 0	20
( 30	ana	name	C	)	( 57	ana	name	IN	)	(	57	and	name	CA	)	( 57	and	name	C	) 10	-120	40
(40	and	name	C	)	( 41	and	name	N	)	(	4 L	and	name	ĊA	)	( 41	and	name	C	) 10	-120	40
( 41	and	name	С	)	(42	and	name	Ν	)	(	42	and	name	CA	)	( 42	and	name	С	) 10	-120	40
( 43	and	name	С	)	( 44	and	name	Ν	)	(	44	and	name	CA	)	( 44	and	name	С	) 10	-120	40
i 46	and	name	С	ý	( 47	and	name	N	j	i	47	and	name	CA	j	i 47	and	name	С	j 10	-120	40
( 51	and	namo	Ĉ	í	( 52	and	namo	N	í	ì	52	and	namo	CA	í	( 52	and	namo	Ĉ	1 10	-60	20
( 51	and	manie	ä	(		and	manne	NT NT	(	ì	52	and	manie	CA CA	(		and	manie	a	) 10	1 2 0	20
( 52	and	name	C	)	( 53	and	name	IN	)	(	53	and	name	ĊA	)	( 53	and	name	C	) 10	-120	40
(53	and	name	С	)	(54	and	name	Ν	)	(	54	and	name	CA	)	(54	and	name	С	) 10	-120	40
(54	and	name	С	)	(55	and	name	Ν	)	(	55	and	name	CA	)	( 55	and	name	С	) 10	-120	40
( 55	and	name	С	)	(56	and	name	Ν	)	(	56	and	name	CA	)	( 56	and	name	С	) 10	-120	40
1 66	and	name	Ĉ	ý	( 67	and	name	N	ý	ì	67	and	name	CA	í	( 67	and	name	ĉ	) <u>10</u>	-120	40
1 67	and	nomo	a		1 60	and	nomo	NT		ì	607	and	nomo	CA QA		1 60	and	nomo	a	10	120	10
( 07	ana	name	C	(	( 00	ana	name	IN	,	(	00	and	name	CA	,	( 00	ana	name	Č	) 10	-120	40
(68	and	name	C	)	( 69	and	name	Ν	)	(	69	and	name	CA	)	( 69	and	name	C	) 10	-120	40
(69	and	name	С	)	(70	and	name	Ν	)	(	70	and	name	CA	)	(70	and	name	С	) 10	-120	40
(70	and	name	С	)	(71	and	name	Ν	)	(	71	and	name	CA	)	(71	and	name	С	) 10	-60	20
(71	and	name	С	ý	(72	and	name	N	j	i	72	and	name	CA	j	(72	and	name	С	j 10	-120	40
( 75	and	namo	Ĉ	í	1 76	and	namo	N	í	ì	76	and	namo	CA	í	1 76	and	namo	Ĉ	1 10	-60	20
( 75	anu	Italle	č	(	( 70	anu	manie	11	(	Ş	70	and	IIallie	CA	(	( 70	and	Itallie	č	) 10	100	20
( //	and	name	C	)	( /8	ana	name	IN	)	(	/8	and	name	ĊA	)	( /8	and	name	C	) 10	-120	40
(79	and	name	С	)	(80	and	name	Ν	)	(	80	and	name	CA	)	(80	and	name	С	) 10	-120	40
(80	and	name	С	)	( 81	and	name	Ν	)	(	81	and	name	CA	)	( 81	and	name	С	) 10	-120	40
( 83	and	name	С	)	(84	and	name	Ν	)	(	84	and	name	CA	)	(84	and	name	С	) 10	-120	40
( 88	and	name	Ĉ	ý	( 89	and	name	N	ý	ì	89	and	name	CA	í	1 89	and	name	ĉ	) <u>10</u>	-60	20
( 00	and	name	ä	(	( 04	and	name	IN NT			01	and	name	CA CA		( 0)	and	name	a	) 10	1 2 0	20
(93	and	name	C	)	(94	and	name	IN	)	(	94	and	name	ĊA	)	(94	and	name	C	) 10	-120	40
(94	and	name	С	)	(95	and	name	Ν	)	(	95	and	name	CA	)	( 95	and	name	C	) 10	-120	40
(95	and	name	С	)	(96	and	name	Ν	)	(	96	and	name	CA	)	(96	and	name	С	) 10	-120	40
(96	and	name	С	)	(97	and	name	Ν	)	(	97	and	name	CA	)	(97	and	name	С	) 10	-60	20
( 97	and	name	C	ý	( 98	and	name	N	ý	ì	98	and	name	CA	ý	( 98	and	name	Ċ	ý 10	-120	40
1 00	and	nomo	c	Ś	1 00	and	nomo	NT.	Ś	ì	00	and	nomo	CA	Ś	1 00	and	nomo	c	1 10	120	10
( 90	anu	Italle	č	(	(100	anu	manie	11	(		100	and	Italle	CA	(	(100	and	Itallie	č	) 10	-120	40
( 99	and	name	C	)	(100	and	name	IN	)	( -	100	and	name	ĊA	)	(100	and	name	C	) 10	-120	40
(100	and	name	С	)	(101	and	name	Ν	)	( ]	101	and	name	CA	)	(101	and	name	С	) 10	-120	40
(102	and	name	С	)	(103	and	name	Ν	)	(1	103	and	name	CA	)	(103	and	name	С	) 10	-120	40
(103	and	name	С	)	(104	and	name	Ν	)	(1	104	and	name	CA	)	(104	and	name	С	) 10	-120	40
(104	and	name	C	ý	(105	and	name	N	ý	ì	105	and	name	CA	ý	(105	and	name	Ċ	ý 10	-120	40
(106	and	namo	ĉ	Ń	(107	and	namo	N	Ś	ì	107	and	namo	CA	ý	(107	and	namo	ĉ	) <u>10</u>	_120	40
(100	and	manie	a	(	(11)	and	manie	NT NT	,		1107	and	manie	CA CA		(11)	and	manie	c	) 10	120	40
	anq	name	C	)	$(\perp \perp \angle$	and	name	IN	)	(-		and	name	CA	)		and	name	C a	) <u>1</u> 0	-120	40
(112	and	name	С	)	(113	and	name	Ν	)	( ]	TT 3	and	name	CA	)	(113	and	name	C	) 10	-120	40
(114	and	name	С	)	(115	and	name	Ν	)	(1	115	and	name	CA	)	(115	and	name	С	) 10	-120	40
(115	and	name	С	)	(116	and	name	Ν	)	(1	116	and	name	CA	)	(116	and	name	С	) 10	-120	40
(116	and	name	Ċ	ý	(117	and	name	N	ý	ì	117	and	name	CA	ý	(117	and	name	Ċ	ý 10	-120	40
(117	and	namo	c	Ś	(110	and	namo	N	Ś	1	110	and	namo	CA	í	(110	and	namo	c	1 10	_120	40
(11)	anu	Itallie	C	(	(110	anu	name	11	,	(-	110	anu	Itallie	CA	(	(110	anu	Itallie	Č	) 10	-120	40
(118	and	name	C	)	(119	ana	name	IN	)	(_	119	ana	name	ĊA	)	(119	and	name	C	) 10	-120	40
(136	and	name	С	)	(137	and	name	Ν	)	(1	137	and	name	CA	)	(137	and	name	C	) 10	-60	20
(138	and	name	С	)	(139	and	name	Ν	)	(1	139	and	name	CA	)	(139	and	name	С	) 10	-60	20
(140	and	name	С	)	(141	and	name	Ν	)	(1	141	and	name	CA	)	(141	and	name	С	) 10	-60	20
(141	and	name	Ċ	ń	(142	and	name	N	ń	ì	142	and	name	CA	ń	(142	and	name	C	) 10	-60	20
(142	and	nome	č	· ·	(111	and	nome	×.	,	/-	1/1/	and	nome	07	,	(114	and	nome	č	, 10	60	20
(143	and	name	G	(	(144	and	name	TN NT	)	)-	1 4 4	and	name	CA	,	(144	and	name		/ 10	-00	20
(144	and	name	C	)	(145	and	name	IN	)	( -	145	and	name	ĊA	)	(145	and	name	C	) TO	-60	20
(147	and	name	С	)	(148	and	name	Ν	)	(1	⊥48	and	name	CA	)	(148	and	name	С	) 10	-60	20
(148	and	name	С	)	(149	and	name	Ν	)	(1	149	and	name	CA	)	(149	and	name	C	) 10	-60	20
(149	and	name	С	)	(150	and	name	Ν	)	(1	150	and	name	CA	)	(150	and	name	С	) 10	-60	20
(150	and	name	Ċ	ý	(151	and	name	N	ń	ì	151	and	name	CA	í	(151	and	name	Ċ	j 10	-60	20
(151	and	name	č	Ń	(150	and	name	NT	,	/-	150	and	name	C7	Ń	(15)	and	name	č	) 10	_ 60	20
(10)	and	name	d	,		and	name	TN VT	,	)-		and	name	CA CA	,	(154	and	name	d	/ 10	100	40
(153	ana	name	C	)	(154	and	name	IN	)	(-	104	and	name	ĊA	)	(154	and	name	C.	) <u>1</u> 0	-120	40
(155	and	name	С	)	(156	and	name	N	)	(1	156	and	name	CA	)	(156	and	name	C	) 10	-120	40

(158 and	name C	) (159 and name N	) (159 and name CA	) (159 and name C	) 10 -120 40

### 10.5.1.5 Abstandsbeschränkungen aus der Identifizierung von Wasserstoffbrücken

| 0  | 7                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | ۰ <b>.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1774                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | ~                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 0 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <u> </u>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 3.7                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | ``                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1774                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | ~                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | ```                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 2 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 9  | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (114                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | ana                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 9                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | ana                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | IN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (114                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| ΤT | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | ΗN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (112                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | ΤT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (112                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 18 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (14                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (14                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 19 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ( 15                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 19                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 15                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 20 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ( 16                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 20                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 16                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 21 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ( 17                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 21                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 17                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 22 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ( 18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 22                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 23 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ( 19                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 23                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 19                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 75 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (80                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 75                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (80                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 80 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (75                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 80                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (75                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 81 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (102                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 81                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (102                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 82 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (73                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 82                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (73                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 83 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (100                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 83                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (100                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 84 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (70                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 84                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (70                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 85 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (98                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 85                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (98                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 86 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ( 68                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 86                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 68                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 95 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (91                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 95                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (91                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 96 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (121                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 96                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (121                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 98 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (85                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 98                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (85                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 99 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (119                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Ì                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 99                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (119                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 00 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (83                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 00                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (83                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 01 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (117                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .01                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (117                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 02 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (81                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .02                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 81                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 03 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (115                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .03                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (115                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 05 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (113                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .05                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (113                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 12 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ( 11                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .12                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ( 11                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 13 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (105                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .13                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (105                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 14 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (9                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .14                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (9                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 15 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (103                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .15                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (103                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | ý                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 18 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ,<br>(5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 44 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (140                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 44                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | ý                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (140                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | ý                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 48 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (144)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .48                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (144                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | ý                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 51 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (147                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | ý                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .51                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | j                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (147                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | ý                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 57 | and                                    | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (154                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           
                                                                                                                                                                                       | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | (1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | .57                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ν                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | (154                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | and                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                                                              
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | ý                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|    | 91890122227888888899990000001111144455 | 9 and<br>11 and<br>11 and<br>13 and<br>20 and<br>21 and<br>22 and<br>23 and<br>75 and<br>80 and<br>81 and<br>82 and<br>83 and<br>84 and<br>85 and<br>85 and<br>96 and<br>98 and<br>99 and<br>01 and<br>01 and<br>02 and<br>03 and<br>12 and<br>13 and<br>14 and<br>15 and<br>14 and<br>15 and<br>15 and<br>15 and<br>12 and<br>13 and<br>14 and<br>15 and<br>15 and<br>15 and<br>15 and<br>15 and<br>16 and<br>11 and<br>12 and<br>12 and<br>13 and<br>13 and<br>14 and<br>15 and | 9 and name<br>11 and name<br>18 and name<br>19 and name<br>20 and name<br>21 and name<br>22 and name<br>23 and name<br>23 and name<br>23 and name<br>84 and name<br>85 and name<br>86 and name<br>86 and name<br>87 and name<br>89 and name<br>99 and name<br>90 and name<br>90 and name<br>91 and name<br>92 and name<br>93 and name<br>93 and name<br>93 and name<br>94 and name<br>12 and name<br>13 and name<br>14 and name<br>14 and name<br>14 and name<br>14 and name<br>14 and name<br>15 and name<br>14 and name<br>15 and name<br>14 and name<br>15 and name<br>16 and name<br>17 and name<br>18 and name<br>19 and name<br>10 and name<br>10 and name<br>10 and name<br>11 and name<br>12 and name<br>13 and name<br>14 and name<br>15 and name<br>16 and name<br>17 and name<br>18 and name<br>19 and name<br>10 and name<br>10 and name<br>10 and name<br>11 and name | 9 and name HN<br>11 and name HN<br>13 and name HN<br>20 and name HN<br>21 and name HN<br>21 and name HN<br>23 and name HN<br>23 and name HN<br>23 and name HN<br>84 and name HN<br>85 and name HN<br>86 and name HN<br>86 and name HN<br>86 and name HN<br>87 and name HN<br>88 and name HN<br>89 and name HN<br>99 and name HN<br>99 and name HN<br>90 and name HN<br>90 and name HN<br>91 and name HN<br>93 and name HN<br>94 and name HN<br>95 and name HN<br>95 and name HN<br>95 and name HN<br>91 and name HN<br>93 and name HN<br>94 and name HN<br>95 and name HN<br>94 and name HN<br>13 and name HN<br>14 and name HN<br>15 and name HN<br>15 and name HN<br>16 and name HN<br>17 and name HN<br>18 and name HN<br>19 and name HN<br>19 and name HN<br>10 and name HN<br>10 and name HN<br>11 and name HN<br>12 and name HN<br>13 and name HN<br>14 and name HN<br>15 and name HN<br>15 and name HN<br>16 and name HN<br>17 and name HN<br>18 and name HN<br>18 and name HN<br>19 and name HN | 9       and       name       HN         11       and       name       HN         12       and       name       HN         20       and       name       HN         21       and       name       HN         22       and       name       HN         23       and       name       HN         24       and       name       HN         25       and       name       HN         81       and       name       HN         82       and       name       HN         83       and       name       HN         84       and       name       HN         85       and       name       HN         85       and       name       HN         96       and       name       HN         98       and       name       HN         90       and       name< | 9       and       name       HN       )         11       and       name       HN       )         18       and       name       HN       )         19       and       name       HN       )         20       and       name       HN       )         21       and       name       HN       )         21       and       name       HN       )         22       and       name       HN       )         23       and       name       HN       )         23       and       name       HN       )         23       and       name       HN       )         24       and       name       HN       )         80       and       name       HN       )         81       and       name       HN       )         82       and       name       HN       )         82       and       name       HN       )         85       and       name       HN       )         96       and       name       HN       )         98 | 9 and name HN       ) (114         11 and name HN       ) (112         18 and name HN       ) (14         19 and name HN       ) (14         19 and name HN       ) (15         20 and name HN       ) (17         22 and name HN       ) (18         23 and name HN       ) (18         23 and name HN       ) (19         75 and name HN       ) (102         82 and name HN       ) (102         82 and name HN       ) (102         82 and name HN       ) (102         83 and name HN       ) (102         84 and name HN       ) (102         85 and name HN       ) (121         96 and name HN       ) (121         98 and name HN       ) (117         02 and name HN       ) (117         02 and name HN       ) (113         113 and name HN       ) (113         12 and name HN       ) (113         13 and name HN       ) (103         14 and name HN       ) (103         15 and name HN       ) (103         14 and name HN       ) (1 | 9 and name HN       ) (112 and         11 and name HN       ) (112 and         18 and name HN       ) (14 and         19 and name HN       ) (15 and         20 and name HN       ) (15 and         21 and name HN       ) (16 and         22 and name HN       ) (18 and         23 and name HN       ) (18 and         23 and name HN       ) (19 and         75 and name HN       ) (102 and         81 and name HN       ) (102 and         81 and name HN       ) (100 and         81 and name HN       ) (100 and         85 and name HN       ) (101 and         85 and name HN       ) (121 and         96 and name HN       ) (121 and         98 and name HN       ) (121 and         98 and name HN       ) (121 and         99 and name HN       ) (117 and         01 and name HN       ) (113 and         02 and name HN       ) (113 and         03 and name HN       ) (115 and         04 and name HN       ) (115 and         05 and name HN       ) (115 and         12 and name HN       ) (115 and         13 and name HN       ) (110 and         14 and name HN       ) (103 and         < | 9 and name HN ) (114 and name<br>11 and name HN ) (112 and name<br>13 and name HN ) (112 and name<br>19 and name HN ) (14 and name<br>20 and name HN ) (15 and name<br>21 and name HN ) (15 and name<br>22 and name HN ) (17 and name<br>23 and name HN ) (19 and name<br>23 and name HN ) (19 and name<br>80 and name HN ) (19 and name<br>81 and name HN ) (75 and name<br>82 and name HN ) (73 and name<br>83 and name HN ) (70 and name<br>84 and name HN ) (70 and name<br>85 and name HN ) (70 and name<br>86 and name HN ) (100 and name<br>87 and name HN ) (101 and name<br>80 and name HN ) (100 and name<br>81 and name HN ) (101 and name<br>82 and name HN ) (101 and name<br>83 and name HN ) (101 and name<br>84 and name HN ) (101 and name<br>85 and name HN ) (121 and name<br>96 and name HN ) (112 and name<br>98 and name HN ) (113 and name<br>90 and name HN ) (113 and name<br>11 and name HN ) (113 and name<br>12 and name HN ) (114 and name<br>13 and name HN ) (103 and name<br>14 and name HN ) (103 and name<br>14 and name HN ) (104 and name<br>15 and name HN ) (104 and name<br>14 and name HN ) (124 and name<br>15 and name HN ) (105 and name<br>14 and name HN ) (103 and name<br>15 and name HN ) (103 and name<br>14 and name HN ) (103 and name<br>15 and name HN ) (104 and name<br>16 and name HN ) (105 and name<br>17 and name HN ) (104 and name<br>18 and name HN ) (104 and name<br>19 and name HN ) (105 and name<br>10 and name HN ) (104 and name<br>10 and name HN ) (104 and name<br>11 and name HN ) (104 and name<br>12 and name HN ) (104 and name<br>13 and name HN ) (104 and name<br>14 and name HN ) (144 and name<br>15 and name HN ) (144 and name<br>16 and name HN ) (154 and name | 9 and name HN ) (114 and name 0<br>11 and name HN ) (112 and name 0<br>18 and name HN ) (14 and name 0<br>19 and name HN ) (15 and name 0<br>20 and name HN ) (15 and name 0<br>21 and name HN ) (17 and name 0<br>22 and name HN ) (17 and name 0<br>23 and name HN ) (19 and name 0<br>23 and name HN ) (19 and name 0<br>23 and name HN ) (19 and name 0<br>80 and name HN ) (75 and name 0<br>81 and name HN ) (75 and name 0<br>82 and name HN ) (73 and name 0<br>83 and name HN ) (70 and name 0<br>84 and name HN ) (70 and name 0<br>85 and name HN ) (70 and name 0<br>86 and name HN ) (70 and name 0<br>87 and name HN ) (102 and name 0<br>88 and name HN ) (101 and name 0<br>89 and name HN ) (101 and name 0<br>90 and name HN ) (121 and name 0<br>91 and name HN ) (112 and name 0<br>92 and name HN ) (113 and name 0<br>93 and name HN ) (113 and name 0<br>94 and name HN ) (113 and name 0<br>95 and name HN ) (113 and name 0<br>91 and name HN ) (114 and name 0<br>92 and name HN ) (115 and name 0<br>93 and name HN ) (114 and name 0<br>94 and name HN ) (115 and name 0<br>95 and name HN ) (114 and name 0<br>95 and name HN ) (114 and name 0<br>91 and name HN ) (15 and name 0<br>91 and name HN ) (103 and name 0<br>91 and name HN ) (104 and name 0<br>91 and name HN ) (15 and name 0<br>91 and name HN ) (15 and name 0<br>91 and name HN ) (15 and name 0<br>91 and name HN ) (140 and | 9 and name HN ) (112 and name O )<br>11 and name HN ) (112 and name O )<br>13 and name HN ) (14 and name O )<br>19 and name HN ) (15 and name O )<br>20 and name HN ) (15 and name O )<br>21 and name HN ) (16 and name O )<br>22 and name HN ) (17 and name O )<br>23 and name HN ) (18 and name O )<br>23 and name HN ) (19 and name O )<br>23 and name HN ) (19 and name O )<br>80 and name HN ) (102 and name O )<br>81 and name HN ) (102 and name O )<br>82 and name HN ) (102 and name O )<br>83 and name HN ) (100 and name O )<br>84 and name HN ) (100 and name O )<br>85 and name HN ) (100 and name O )<br>86 and name HN ) (100 and name O )<br>87 and name HN ) (100 and name O )<br>80 and name HN ) (100 and name O )<br>81 and name HN ) (100 and name O )<br>82 and name HN ) (101 and name O )<br>84 and name HN ) (121 and name O )<br>95 and name HN ) (119 and name O )<br>96 and name HN ) (119 and name O )<br>99 and name HN ) (115 and name O )<br>101 and name HN ) (115 and name O )<br>112 and name
O )<br>123 and name HN ) (114 and name O )<br>13 and name HN ) (115 and name O )<br>14 and name HN ) (114 and name O )<br>15 and name HN ) (115 and name O )<br>14 and name HN ) (140 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (144 and name O )<br>15 and name HN ) (145 and name O ) | 9 and name HN       ) (112 and name 0       ) 2.3         11 and name HN       ) (112 and name 0       ) 2.3         18 and name HN       ) (14 and name 0       ) 2.3         19 and name HN       ) (15 and name 0       ) 2.3         20 and name HN       ) (15 and name 0       ) 2.3         21 and name HN       ) (16 and name 0       ) 2.3         21 and name HN       ) (17 and name 0       ) 2.3         23 and name HN       ) (18 and name 0       ) 2.3         23 and name HN       ) (19 and name 0       ) 2.3         23 and name HN       ) (19 and name 0       ) 2.3         80 and name HN       ) (102 and name 0       ) 2.3         81 and name HN       ) (102 and name 0       ) 2.3         82 and name HN       ) (102 and name 0       ) 2.3         83 and name HN       ) (70 and name 0       ) 2.3         84 and name HN       ) (98 and name 0       ) 2.3         85 and name HN       ) (121 and name 0       ) 2.3         96 and name HN       ) (112 and name 0       ) 2.3         97 and name HN       ) (117 and name 0       ) 2.3         98 and name HN       ) (117 and name 0       ) 2.3         99 and name HN       ) (117 and name 0       ) 2.3< | 9 and name HN       ) (112 and name 0       ) 2.3       (         11 and name HN       ) (112 and name 0       ) 2.3       (         18 and name HN       ) (14 and name 0       ) 2.3       (         19 and name HN       ) (15 and name 0       ) 2.3       (         20 and name HN       ) (15 and name 0       ) 2.3       (         21 and name HN       ) (17 and name 0       ) 2.3       (         22 and name HN       ) (17 and name 0       ) 2.3       (         23 and name HN       ) (19 and name 0       ) 2.3       (         24 and name HN       ) (19 and name 0       ) 2.3       (         25 and name HN       ) (102 and name 0       ) 2.3       (         80 and name HN       ) (102 and name 0       ) 2.3       (         81 and name HN       ) (102 and name 0       ) 2.3       (         82 and name HN       ) (102 and name 0       ) 2.3       (         84 and name HN       ) (101 and name 0       ) 2.3       (         85 and name HN       ) (121 and name 0       ) 2.3       (         96 and name HN       ) (112 and name 0       ) 2.3       (         97 and name HN       ) (117 and name 0       ) 2.3       ( | 9 and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       (9)         11 and name HN       ) (112 and name O       ) 2.3       (11         18 and name HN       ) (14 and name O       ) 2.3       (18         19 and name HN       ) (15 and name O       ) 2.3       (21         20 and name HN       ) (16 and name O       ) 2.3       (21         21 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (21         22 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (22         23 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (22         23 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (23         25 and name HN       ) (102 and name O       ) 2.3       (80         81 and name HN       ) (102 and name O       ) 2.3       (81         82 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (82         83 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (84         84 and name HN       ) (121 and name O       ) 2.3       (85         86 and name HN       ) (121 and name O       ) 2.3       (98         96 and name HN       ) (119 and name O       ) 2.3       (98         99 and name HN       ) (119 and name O       ) 2.3 <td>9 and name HN) (112 and name O) 2.3(9 and11 and name HN) (112 and name O) 2.3(11 and18 and name HN) (14 and name O) 2.3(18 and19 and name HN) (15 and name O) 2.3(20 and20 and name HN) (16 and name O) 2.3(21 and21 and name HN) (17 and name O) 2.3(22 and22 and name HN) (18 and name O) 2.3(22 and23 and name HN) (19 and name O) 2.3(23 and30 and name HN) (19 and name O) 2.3(80 and80 and name HN) (102 and name O) 2.3(81 and81 and name HN) (102 and name O) 2.3(82 and83 and name HN) (100 and name O) 2.3(83 and84 and name HN) (100 and name O) 2.3(85 and85 and name HN) (101 and name O) 2.3(85 and86 and name HN) (101 and name O) 2.3(85 and86 and name HN) (121 and name O) 2.3(95 and96 and name HN) (119 and name O) 2.3(98 and99 and name HN) (113 and name O) 2.3(100 and111 and name O) 2.3(101 and12 and name HN) (113 and name O) 2.3(102 and13 and name HN) (115 and name O) 2.3(101 and14 and name HN) (115 and name O) 2.3(101 and15 and name HN) (115 and name O) 2.3(102 and13 and name HN) (115 and</td> <td>9 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 9 and name 11 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 11 and name 18 and name HN ) ( 14 and name 0 ) 2.3 ( 18 and name 19 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 19 and name 20 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 20 and name 21 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name 22 and name HN ) ( 18 and name 0 ) 2.3 ( 22 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name 10 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 80 and name 80 and name HN ) ( 75 and name 0 ) 2.3 ( 80 and name 81 and name HN ) ( 75 and name 0 ) 2.3 ( 81 and name 82 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 82 and name 83 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name 84 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 86 and name 86 and name HN ) ( 91 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name 95 and name HN ) ( 112 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name 96 and name HN ) ( 119 and name 0 ) 2.3 ( 96 and name 99 and name HN ) ( 119 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 92 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 93 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 103 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 104 and name 91 and name HN ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 104 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name 91 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 1144 and name 91 and name HN ) ( 1140 and name 0 ) 2.3 ( 1151 and name 91 and name HN ) ( 140 and name 0 ) 2.3 ( 1151 and name 91 and name HN ) ( 103 and name 0 ) 2.3 ( 1151 and name 91 and name HN ) ( 144 and name 0 ) 2.3 ( 144 and name 91 and name</td> <td>9 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 ( 9 and name N<br/>11 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 11 and name N<br/>18 and name HN ) (14 and name O ) 2.3 ( 18 and name N<br/>19 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 20 and name N<br/>20 and name HN ) (16 and name O ) 2.3 ( 21 and name N<br/>21 and name HN ) (17 and name O ) 2.3 ( 22 and name N<br/>22 and name HN ) (18 and name O ) 2.3 ( 23 and name N<br/>23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N<br/>23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N<br/>24 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 75 and name N<br/>25 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 80 and name N<br/>81 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N<br/>81 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 82 and name N<br/>82 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N<br/>83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N<br/>84 and name HN ) (70 and name O ) 2.3 ( 85 and name N<br/>85 and name HN ) (98 and name O ) 2.3 ( 85 and name N<br/>86 and name HN ) (191 and name O ) 2.3 ( 86 and name N<br/>86 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 95 and name N<br/>96 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 96 and name N<br/>96 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 96 and name N<br/>97 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 96 and name N<br/>98 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 99 and name N<br/>90 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 100 and name N<br/>91 and name HN ) (111 and name O ) 2.3 ( 100 and name N<br/>92 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 ( 101 and name N<br/>93 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (102 and name N<br/>94 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (113 and name N<br/>95 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N<br/>91 and name HN ) (105 and name O ) 2.3 (114 and name N<br/>91 and name HN ) (103 and name O ) 2.3 (114 and name N<br/>91 and name HN ) (104 and name O ) 2.3 (114 and name N<br/>91 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (115 and name N<br/>91 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (144 and name N<br/>91 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (157 and name N<br/>92 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (151 and name N<br/>93 and name HN ) (144 and name O ) 2.3</td> <td>9 and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       (9 and name N)         11 and name HN       ) (112 and name O       ) 2.3       (11 and name N)         18 and name HN       ) (15 and name O       ) 2.3       (18 and name N)         19 and name HN       ) (15 and name O       ) 2.3       (19 and name N)         20 and name HN       )
(16 and name O       ) 2.3       (20 and name N)         21 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (21 and name N)         22 and name HN       ) (18 and name O       ) 2.3       (22 and name N)         23 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (22 and name N)         24 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (23 and name N)         80 and name HN       ) (75 and name O       ) 2.3       (80 and name N)         81 and name HN       ) (102 and name O       ) 2.3       (81 and name N)         82 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (84 and name N)         84 and name HN       ) (70 and name O       ) 2.3       (84 and name N)         85 and name HN       ) (98 and name O       ) 2.3       (86 and name N)         96 and name HN       ) (121 and name O       ) 2.3       (96 and name N)         96 and name HN<td>9 and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       (9 and name N       ) (112         11 and name HN       ) (12 and name O       ) 2.3       (11 and name N       ) (112         18 and name HN       ) (14 and name O       ) 2.3       (19 and name N       ) (14         19 and name HN       ) (16 and name O       ) 2.3       (20 and name N       ) (16         20 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (21 and name N       ) (17         22 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (22 and name N       ) (18         23 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (23 and name N       ) (19         75 and name HN       ) (175 and name O       ) 2.3       (80 and name N       ) (75         80 and name HN       ) (102 and name O       ) 2.3       (81 and name N       ) (75         81 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (82 and name N       ) (100         84 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (84 and name N       ) (100         84 and name HN       ) (91 and name O       ) 2.3       (86 and name N       ) (68         95 and name HN       ) (121 and name O       ) 2.3       (95 and name N       ) (121         96 and name HN<!--</td--><td>9 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and 11 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and 18 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 18 and name N ) (15 and 19 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 20 and name N ) (15 and 20 and name HN ) (16 and name O ) 2.3 ( 21 and name N ) (16 and 21 and name HN ) (17 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (18 and 80 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (102 and 81 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (103 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N ) (173 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 84 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 85 and name HN ) (68 and name O ) 2.3 ( 86 and name N ) (19 and 85 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 95 and name N ) (121 and 96 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 98 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 99 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (123 and 01 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 02 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (102 and name N ) (115 and 03 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 12 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 12 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (103 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (115 and name N ) (116 and 148 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (1144 and name N</td><td>9 and name HN ) (114 and name 0 ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and name 18 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and name 18 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 18 and name N ) ( 15 and name 19 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 20 and name N ) ( 15 and name 20 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 16 and name 21 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 18 and name 23 and name HN ) ( 18 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 25 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 80 and name HN ) ( 10 and name 0 ) 2.3 ( 75 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 81 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 82 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 100 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 83 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 86 and name N ) ( 98 and name 86 and name HN ) ( 91 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 91 and name 9 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 121 and name 96 and name HN ) ( 112 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 9 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 101 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 9 and name HN ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 10 and name 11 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name 0 ) 2.3 ( 114 and name N ) ( 104 and name 0 ) 2.3 ( 114 and n</td><td>9       and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) (114 and name O         11       and name HN       ) ( 114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) ( 112 and name O         18       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 18 and name N       ) ( 15 and name O         19       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 20 and name N       ) ( 15 and name O         20       and name HN       ) ( 17 and name O       ) 2.3       ( 21 and name N       ) ( 17 and name O         21       and name HN       ) ( 18 and name O       ) 2.3       ( 22 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 19 and name O       ) 2.3       ( 23 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 80 and name N       ) ( 102 and name O         80       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         81       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         82 and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 84 and name N       ) ( 100 and name O         83 and name HN</td><td>9 and name HN       ) (114 and name O       )       2.3       (9 and name N       ) (112 and name O       )         11 and name HN       ) (112 and name O       )       2.3       (11 and name N       ) (112 and name O       )         18 and name HN       ) (14 and name O       )       2.3       (18 and name N       ) (14 and name O       )         19 and name HN       ) (15 and name O       )       2.3       (20 and name N       ) (16 and name O       )         21 and name HN       ) (17 and name O       )       2.3       (21 and name N       ) (18 and name O       )         22 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (22 and name N       ) (19 and name O       )         23 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (23 and name N       ) (10 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (80 and name N       ) (75 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (81 and name N       ) (102 and name O       )         34 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (82 and name N       ) (75 and name O       )         35 and name HN       ) (104 and name O<!--</td--><td>9       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (9 and name N)       ) (112 and name 0         11       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (11 and name N)       ) (114 and name 0         18       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (118 and name N)       ) (114 and name 0         19       and name HN       ) (15 and name 0       2.3       (19 and name N)       ) (16 and name 0         20       and name HN       ) (17 and name 0       2.3       (20 and name N)       ) (18 and name 0         21       and name HN       ) (18 and name 0       2.3       (22 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (19 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (75 and name 0         80       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         81       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         82       and name HN       ) (70 and name 0       2.3       (84 and name N)       ) (70 and name 0         84 and name HN       ) (68 and name 0</td></td></td></td> | 9 and name HN) (112 and name O) 2.3(9 and11 and name HN) (112 and name O) 2.3(11
and18 and name HN) (14 and name O) 2.3(18 and19 and name HN) (15 and name O) 2.3(20 and20 and name HN) (16 and name O) 2.3(21 and21 and name HN) (17 and name O) 2.3(22 and22 and name HN) (18 and name O) 2.3(22 and23 and name HN) (19 and name O) 2.3(23 and30 and name HN) (19 and name O) 2.3(80 and80 and name HN) (102 and name O) 2.3(81 and81 and name HN) (102 and name O) 2.3(82 and83 and name HN) (100 and name O) 2.3(83 and84 and name HN) (100 and name O) 2.3(85 and85 and name HN) (101 and name O) 2.3(85 and86 and name HN) (101 and name O) 2.3(85 and86 and name HN) (121 and name O) 2.3(95 and96 and name HN) (119 and name O) 2.3(98 and99 and name HN) (113 and name O) 2.3(100 and111 and name O) 2.3(101 and12 and name HN) (113 and name O) 2.3(102 and13 and name HN) (115 and name O) 2.3(101 and14 and name HN) (115 and name O) 2.3(101 and15 and name HN) (115 and name O) 2.3(102 and13 and name HN) (115 and | 9 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 9 and name 11 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 11 and name 18 and name HN ) ( 14 and name 0 ) 2.3 ( 18 and name 19 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 19 and name 20 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 20 and name 21 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name 22 and name HN ) ( 18 and name 0 ) 2.3 ( 22 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name 10 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 80 and name 80 and name HN ) ( 75 and name 0 ) 2.3 ( 80 and name 81 and name HN ) ( 75 and name 0 ) 2.3 ( 81 and name 82 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 82 and name 83 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name 84 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 86 and name 86 and name HN ) ( 91 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name 95 and name HN ) ( 112 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name 96 and name HN ) ( 119 and name 0 ) 2.3 ( 96 and name 99 and name HN ) ( 119 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 100 and name 92 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 93 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 103 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 104 and name 91 and name HN ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 104 and name 91 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name 91 and name HN ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 1144 and name 91 and name HN ) ( 1140 and name 0 ) 2.3 ( 1151 and name 91 and name HN ) ( 140 and name 0 ) 2.3 ( 1151 and name 91 and name HN ) ( 103 and name 0 ) 2.3 ( 1151 and name 91 and name HN ) ( 144 and name 0 ) 2.3 ( 144 and name 91 and name | 9 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 ( 9 and name N<br>11 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 11 and name N<br>18 and name HN ) (14 and name O ) 2.3 ( 18 and name N<br>19 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 20 and name N<br>20 and name HN ) (16 and name O ) 2.3 ( 21 and name N<br>21 and name HN ) (17 and name O ) 2.3 ( 22 and name N<br>22 and name HN ) (18 and name O ) 2.3 ( 23 and name N<br>23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N<br>23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N<br>24 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 75 and name N<br>25 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 80 and name N<br>81 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N<br>81 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 82 and name N<br>82 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N<br>83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N<br>84 and name HN ) (70 and name O ) 2.3 ( 85 and name N<br>85 and name HN ) (98 and name O ) 2.3 ( 85 and name N<br>86 and name HN ) (191 and name O ) 2.3 ( 86 and name N<br>86 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 95 and name N<br>96 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 96 and name N<br>96 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 96 and name N<br>97 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 96 and name N<br>98 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 99 and name N<br>90 and name HN ) (119 and name O ) 2.3 ( 100 and name N<br>91 and name HN ) (111 and name O ) 2.3 ( 100 and name N<br>92 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 ( 101 and name N<br>93 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (102 and name N<br>94 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (113 and name N<br>95 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N<br>91 and name HN ) (105 and name O ) 2.3 (114 and name N<br>91 and name HN ) (103 and name O ) 2.3 (114 and name N<br>91 and name HN ) (104 and name O ) 2.3 (114 and name N<br>91 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (115 and name N<br>91 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (144 and name N<br>91 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (157 and name N<br>92 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (151 and name N<br>93 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 | 9 and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       (9 and name N)         11 and name HN       ) (112 and name O       ) 2.3       (11 and name N)         18 and name HN       ) (15 and name O       ) 2.3       (18 and name N)         19 and name HN       ) (15 and name O       ) 2.3       (19 and name N)         20 and name HN       ) (16 and name O       ) 2.3       (20 and name N)         21 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (21 and name N)         22 and name HN       ) (18 and name O       ) 2.3       (22 and name N)         23 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (22 and name N)         24 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (23 and name N)         80 and name HN       ) (75 and name O       ) 2.3       (80 and name N)         81 and name HN       ) (102 and name O       ) 2.3       (81 and name N)         82 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (84 and name N)         84 and name HN       ) (70 and name O       ) 2.3       (84 and name N)         85 and name HN       ) (98 and name O       ) 2.3       (86 and name N)         96 and name HN       ) (121 and name O       ) 2.3       (96 and name N)         96 and name HN <td>9 and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       (9 and name N       ) (112         11 and name HN       ) (12 and name O       ) 2.3       (11 and name N       ) (112         18 and name HN       ) (14 and name O       ) 2.3       (19 and name N       ) (14         19 and name HN       ) (16 and name O       ) 2.3       (20 and name N       ) (16         20 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (21 and name N       ) (17         22 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (22 and name N       ) (18         23 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (23 and name N       ) (19         75 and name HN       ) (175 and name O       ) 2.3       (80 and name N       ) (75         80 and name HN       ) (102 and name O       ) 2.3       (81 and name N       ) (75         81 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (82 and name N       ) (100         84 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (84 and name N       ) (100         84 and name HN       ) (91 and name O       ) 2.3       (86 and name N       ) (68         95 and name HN       ) (121 and name O       ) 2.3       (95 and name N       ) (121         96 and name HN<!--</td--><td>9 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and 11 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and 18 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 18 and name N ) (15 and 19 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 20 and name N ) (15 and 20 and name HN ) (16 and name O ) 2.3 ( 21 and name N ) (16 and 21 and name HN ) (17 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (18 and 80 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (102 and 81 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (103 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N ) (173 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 84 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 85 and name HN ) (68 and name O ) 2.3 ( 86 and name N ) (19 and 85 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 95 and name N ) (121 and 96 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 98 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 99 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (123 and 01 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 02 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (102 and name N ) (115 and 03 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 12 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 12 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (103 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (115 and name N ) (116 and 148 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (1144 and name N</td><td>9 and name HN ) (114 and name 0 ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and name 18 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and name 18 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 18 and name N ) ( 15 and name 19 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 20 and name N ) ( 15 and name 20 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 16 and name 21 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 18 and
name 23 and name HN ) ( 18 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 25 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 80 and name HN ) ( 10 and name 0 ) 2.3 ( 75 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 81 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 82 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 100 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 83 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 86 and name N ) ( 98 and name 86 and name HN ) ( 91 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 91 and name 9 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 121 and name 96 and name HN ) ( 112 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 9 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 101 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 9 and name HN ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 10 and name 11 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name 0 ) 2.3 ( 114 and name N ) ( 104 and name 0 ) 2.3 ( 114 and n</td><td>9       and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) (114 and name O         11       and name HN       ) ( 114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) ( 112 and name O         18       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 18 and name N       ) ( 15 and name O         19       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 20 and name N       ) ( 15 and name O         20       and name HN       ) ( 17 and name O       ) 2.3       ( 21 and name N       ) ( 17 and name O         21       and name HN       ) ( 18 and name O       ) 2.3       ( 22 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 19 and name O       ) 2.3       ( 23 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 80 and name N       ) ( 102 and name O         80       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         81       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         82 and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 84 and name N       ) ( 100 and name O         83 and name HN</td><td>9 and name HN       ) (114 and name O       )       2.3       (9 and name N       ) (112 and name O       )         11 and name HN       ) (112 and name O       )       2.3       (11 and name N       ) (112 and name O       )         18 and name HN       ) (14 and name O       )       2.3       (18 and name N       ) (14 and name O       )         19 and name HN       ) (15 and name O       )       2.3       (20 and name N       ) (16 and name O       )         21 and name HN       ) (17 and name O       )       2.3       (21 and name N       ) (18 and name O       )         22 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (22 and name N       ) (19 and name O       )         23 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (23 and name N       ) (10 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (80 and name N       ) (75 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (81 and name N       ) (102 and name O       )         34 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (82 and name N       ) (75 and name O       )         35 and name HN       ) (104 and name O<!--</td--><td>9       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (9 and name N)       ) (112 and name 0         11       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (11 and name N)       ) (114 and name 0         18       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (118 and name N)       ) (114 and name 0         19       and name HN       ) (15 and name 0       2.3       (19 and name N)       ) (16 and name 0         20       and name HN       ) (17 and name 0       2.3       (20 and name N)       ) (18 and name 0         21       and name HN       ) (18 and name 0       2.3       (22 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (19 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (75 and name 0         80       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         81       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         82       and name HN       ) (70 and name 0       2.3       (84 and name N)       ) (70 and name 0         84 and name HN       ) (68 and name 0</td></td></td> | 9 and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       (9 and name N       ) (112         11 and name HN       ) (12 and name O       ) 2.3       (11 and name N       ) (112         18 and name HN       ) (14 and name O       ) 2.3       (19 and name N       ) (14         19 and name HN       ) (16 and name O       ) 2.3       (20 and name N       ) (16         20 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (21 and name N       ) (17         22 and name HN       ) (17 and name O       ) 2.3       (22 and name N       ) (18         23 and name HN       ) (19 and name O       ) 2.3       (23 and name N       ) (19         75 and name HN       ) (175 and name O       ) 2.3       (80 and name N       ) (75         80 and name HN       ) (102 and name O       ) 2.3       (81 and name N       ) (75         81 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (82 and name N       ) (100         84 and name HN       ) (100 and name O       ) 2.3       (84 and name N       ) (100         84 and name HN       ) (91 and name O       ) 2.3       (86 and name N       ) (68         95 and name HN       ) (121 and name O       ) 2.3       (95 and name N       ) (121         96 and name HN </td <td>9 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and 11 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and 18 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 18 and name N ) (15 and 19 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 20 and name N ) (15 and 20 and name HN ) (16 and name O ) 2.3 ( 21 and name N ) (16 and 21 and name HN ) (17 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (18 and 80 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (102 and 81 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (103 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N ) (173 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 84 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 85 and name HN ) (68 and name O ) 2.3 ( 86 and name N ) (19 and 85 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 95 and name N ) (121 and 96 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 98 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 99 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (123 and 01 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 02 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (102 and name N ) (115 and 03 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 12 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 12 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (103 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (115 and name N ) (116 and 148 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (1144 and name N</td> <td>9 and name HN ) (114 and name 0 ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and name 18 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and name 18 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 18 and name N ) ( 15 and name 19 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 20 and name N ) ( 15 and name 20 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 16 and name 21 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 18 and name 23 and name HN ) ( 18 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 25 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 80 and name HN ) ( 10 and name 0 ) 2.3 ( 75 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 81 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 82 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 100 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 83 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 86 and name N ) ( 98 and name 86 and name HN ) ( 91 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 91 and name 9 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 121 and name 96 and name HN ) ( 112 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 9 ) 2.3 ( 98 and
name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 101 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 9 and name HN ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 10 and name 11 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name 0 ) 2.3 ( 114 and name N ) ( 104 and name 0 ) 2.3 ( 114 and n</td> <td>9       and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) (114 and name O         11       and name HN       ) ( 114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) ( 112 and name O         18       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 18 and name N       ) ( 15 and name O         19       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 20 and name N       ) ( 15 and name O         20       and name HN       ) ( 17 and name O       ) 2.3       ( 21 and name N       ) ( 17 and name O         21       and name HN       ) ( 18 and name O       ) 2.3       ( 22 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 19 and name O       ) 2.3       ( 23 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 80 and name N       ) ( 102 and name O         80       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         81       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         82 and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 84 and name N       ) ( 100 and name O         83 and name HN</td> <td>9 and name HN       ) (114 and name O       )       2.3       (9 and name N       ) (112 and name O       )         11 and name HN       ) (112 and name O       )       2.3       (11 and name N       ) (112 and name O       )         18 and name HN       ) (14 and name O       )       2.3       (18 and name N       ) (14 and name O       )         19 and name HN       ) (15 and name O       )       2.3       (20 and name N       ) (16 and name O       )         21 and name HN       ) (17 and name O       )       2.3       (21 and name N       ) (18 and name O       )         22 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (22 and name N       ) (19 and name O       )         23 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (23 and name N       ) (10 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (80 and name N       ) (75 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (81 and name N       ) (102 and name O       )         34 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (82 and name N       ) (75 and name O       )         35 and name HN       ) (104 and name O<!--</td--><td>9       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (9 and name N)       ) (112 and name 0         11       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (11 and name N)       ) (114 and name 0         18       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (118 and name N)       ) (114 and name 0         19       and name HN       ) (15 and name 0       2.3       (19 and name N)       ) (16 and name 0         20       and name HN       ) (17 and name 0       2.3       (20 and name N)       ) (18 and name 0         21       and name HN       ) (18 and name 0       2.3       (22 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (19 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (75 and name 0         80       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         81       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         82       and name HN       ) (70 and name 0       2.3       (84 and name N)       ) (70 and name 0         84 and name HN       ) (68 and name 0</td></td> | 9 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and 11 and name HN ) (112 and name O ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and 18 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 18 and name N ) (15 and 19 and name HN ) (15 and name O ) 2.3 ( 20 and name N ) (15 and 20 and name HN ) (16 and name O ) 2.3 ( 21 and name N ) (16 and 21 and name HN ) (17 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 23 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 22 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (19 and name O ) 2.3 ( 23 and name N ) (18 and 75 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (18 and 80 and name HN ) (102 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (102 and 81 and name O ) 2.3 ( 81 and name N ) (103 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 82 and name N ) (173 and 83 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 84 and name HN ) (100 and name O ) 2.3 ( 84 and name N ) (100 and 85 and name HN ) (68 and name O ) 2.3 ( 86 and name N ) (19 and 85 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 95 and name N ) (121 and 96 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 98 and name HN ) (121 and name O ) 2.3 ( 96 and name N ) (121 and 99 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (121 and 02 and name HN ) (117 and name O ) 2.3 (100 and name N ) (123 and 01 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 02 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (102 and name N ) (115 and 03 and name HN ) (115 and name O ) 2.3 (101 and name N ) (113 and 12 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 12 and name HN ) (113 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (103 and name O ) 2.3 (112 and name N ) (113 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (114 and name N ) (115 and 13 and name HN ) (114 and name O ) 2.3 (115 and name N ) (116 and 148 and name HN ) (144 and name O ) 2.3 (1144 and name N | 9 and name HN ) (114 and name 0 ) 2.3 ( 9 and name N ) (114 and name 18 and name HN ) (112 and name 0 ) 2.3 ( 11 and name N ) (112 and name 18 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 18 and name N ) ( 15 and name 19 and name HN ) ( 15 and name 0 ) 2.3 ( 20 and name N ) ( 15 and name 20 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 16 and name 21 and name HN ) ( 17 and name 0 ) 2.3 ( 21 and name N ) ( 18 and name 23 and name HN ) ( 18 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 23 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 25 and name HN ) ( 19 and name 0 ) 2.3 ( 23 and name N ) ( 18 and name 80 and name HN ) ( 10 and name 0 ) 2.3 ( 75 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 81 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 102 and name 0 ) 2.3 ( 82 and name N ) ( 102 and name 81 and name HN ) ( 100 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 83 and name HN ) ( 70 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 84 and name N ) ( 100 and name 85 and name HN ) ( 98 and name 0 ) 2.3 ( 86 and name N ) ( 98 and name 86 and name HN ) ( 91 and name 0 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 91 and name 9 ) 2.3 ( 95 and name N ) ( 121 and name 96 and name HN ) ( 112 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 9 ) 2.3 ( 98 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 101 and name N ) ( 121 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 9 and name HN ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 10 and name 11 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 113 and name 0 ) 2.3 ( 102 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 115 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 114 and name 0 ) 2.3 ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name N ) ( 105 and name 0 ) 2.3 ( 114 and name N ) ( 104 and name 0 ) 2.3 ( 114 and n | 9       and name HN       ) (114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) (114 and name O         11       and name HN       ) ( 114 and name O       ) 2.3       ( 11 and name N       ) ( 112 and name O         18       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 18 and name N       ) ( 15 and name O         19       and name HN       ) ( 15 and name O       ) 2.3       ( 20 and name N       ) ( 15 and name O         20       and name HN       ) ( 17 and name O       ) 2.3       ( 21 and name N       ) ( 17 and name O         21       and name HN       ) ( 18 and name O       ) 2.3       ( 22 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 19 and name O       ) 2.3       ( 23 and name N       ) ( 18 and name O         23       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 80 and name N       ) ( 102 and name O         80       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         81       and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 81 and name N       ) ( 102 and name O         82 and name HN       ) ( 102 and name O       ) 2.3       ( 84 and name N       ) ( 100 and name O         83 and name HN | 9 and name HN       ) (114 and name O       )       2.3       (9 and name N       ) (112 and name O       )         11 and name HN       ) (112 and name O       )       2.3       (11 and name N       ) (112 and name O       )         18 and name HN       ) (14 and name O       )       2.3  
    (18 and name N       ) (14 and name O       )         19 and name HN       ) (15 and name O       )       2.3       (20 and name N       ) (16 and name O       )         21 and name HN       ) (17 and name O       )       2.3       (21 and name N       ) (18 and name O       )         22 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (22 and name N       ) (19 and name O       )         23 and name HN       ) (19 and name O       )       2.3       (23 and name N       ) (10 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (80 and name N       ) (75 and name O       )         23 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (81 and name N       ) (102 and name O       )         34 and name HN       ) (102 and name O       )       2.3       (82 and name N       ) (75 and name O       )         35 and name HN       ) (104 and name O </td <td>9       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (9 and name N)       ) (112 and name 0         11       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (11 and name N)       ) (114 and name 0         18       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (118 and name N)       ) (114 and name 0         19       and name HN       ) (15 and name 0       2.3       (19 and name N)       ) (16 and name 0         20       and name HN       ) (17 and name 0       2.3       (20 and name N)       ) (18 and name 0         21       and name HN       ) (18 and name 0       2.3       (22 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (19 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (75 and name 0         80       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         81       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         82       and name HN       ) (70 and name 0       2.3       (84 and name N)       ) (70 and name 0         84 and name HN       ) (68 and name 0</td> | 9       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (9 and name N)       ) (112 and name 0         11       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (11 and name N)       ) (114 and name 0         18       and name HN       ) (114 and name 0       2.3       (118 and name N)       ) (114 and name 0         19       and name HN       ) (15 and name 0       2.3       (19 and name N)       ) (16 and name 0         20       and name HN       ) (17 and name 0       2.3       (20 and name N)       ) (18 and name 0         21       and name HN       ) (18 and name 0       2.3       (22 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (19 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (18 and name 0         23       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (23 and name N)       ) (75 and name 0         80       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         81       and name HN       ) (102 and name 0       2.3       (81 and name N)       ) (70 and name 0         82       and name HN       ) (70 and name 0       2.3       (84 and name N)       ) (70 and name 0         84 and name HN       ) (68 and name 0 |

#### 10.5.2 Experimentelle Randbedingungen für Gly m 4

### 10.5.2.1 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten

(	2	and	name	С	)	)	(	3	and	name	Ν	)	(	3	and	name	CA	)	(	3	and	name	С	)	10	-120	40
(	3	and	name	С	j	)	(	4	and	name	Ν	)	(	4	and	name	CA	)	(	4	and	name	С	)	10	-120	40
(	6	and	name	С	)	)	(	7	and	name	Ν	)	(	7	and	name	CA	)	(	7	and	name	С	)	10	-120	40
(	13	and	name	С	)	)	(	14	and	name	Ν	)	(	14	and	name	CA	)	(	14	and	name	С	)	10	-60	20
(	17	and	name	С	)	)	(	18	and	name	Ν	)	(	18	and	name	CA	)	(	18	and	name	С	)	10	-60	20
(	19	and	name	С	)	)	(	20	and	name	Ν	)	(	20	and	name	CA	)	(	20	and	name	С	)	10	-60	20
(	20	and	name	С	)	)	(	21	and	name	Ν	)	(	21	and	name	CA	)	(	21	and	name	С	)	10	-60	20
(	21	and	name	С	)	)	(	22	and	name	Ν	)	(	22	and	name	CA	)	(	22	and	name	С	)	10	-60	20
(	22	and	name	С	)	)	(	23	and	name	Ν	)	(	23	and	name	CA	)	(	23	and	name	С	)	10	-120	40
(	23	and	name	С	)	)	(	24	and	name	Ν	)	(	24	and	name	CA	)	(	24	and	name	С	)	10	-60	20
(	24	and	name	С	)	)	(	25	and	name	Ν	)	(	25	and	name	CA	)	(	25	and	name	С	)	10	-120	40
(	25	and	name	С	)	)	(	26	and	name	Ν	)	(	26	and	name	CA	)	(	26	and	name	С	)	10	-60	20
(	26	and	name	С	)	)	(	27	and	name	Ν	)	(	27	and	name	CA	)	(	27	and	name	С	)	10	-60	20
(	31	and	name	С	)	)	(	32	and	name	Ν	)	(	32	and	name	CA	)	(	32	and	name	С	)	10	-120	40
(	42	and	name	С	)	)	(	43	and	name	Ν	)	(	43	and	name	CA	)	(	43	and	name	С	)	10	-120	40
(	45	and	name	С	)	)	(	46	and	name	Ν	)	(	46	and	name	CA	)	(	46	and	name	С	)	10	-120	40
(	50	and	name	С	)	)	(	51	and	name	Ν	)	(	51	and	name	CA	)	(	51	and	name	С	)	10	-60	20
(	51	and	name	С	)	)	(	52	and	name	Ν	)	(	52	and	name	CA	)	(	52	and	name	С	)	10	-120	40
(	52	and	name	С	)	)	(	53	and	name	Ν	)	(	53	and	name	CA	)	(	53	and	name	С	)	10	-120	40
(	53	and	name	С	)	)	(	54	and	name	Ν	)	(	54	and	name	CA	)	(	54	and	name	С	)	10	-120	40
(	54	and	name	С	)	)	(	55	and	name	Ν	)	(	55	and	name	CA	)	(	55	and	name	С	)	10	-120	40
(	61	and	name	С	)	)	(	62	and	name	Ν	)	(	62	and	name	CA	)	(	62	and	name	С	)	10	-120	40
(	63	and	name	С	)	)	(	64	and	name	Ν	)	(	64	and	name	CA	)	(	64	and	name	С	)	10	-120	40
(	65	and	name	С	)	)	(	66	and	name	Ν	)	(	66	and	name	CA	)	(	66	and	name	С	)	10	-120	40
(	67	and	name	С	)	)	(	68	and	name	Ν	)	(	68	and	name	CA	)	(	68	and	name	С	)	10	-120	40
(	68	and	name	С	)	)	(	69	and	name	Ν	)	(	69	and	name	CA	)	(	69	and	name	С	)	10	-120	40
(	70	and	name	С	)	)	(	71	and	name	Ν	)	(	71	and	name	CA	)	(	71	and	name	С	)	10	-120	40
(	72	and	name	С	)	)	(	73	and	name	Ν	)	(	73	and	name	CA	)	(	73	and	name	С	)	10	-120	40
(	76	and	name	С	)	)	(	77	and	name	Ν	)	(	77	and	name	CA	)	(	77	and	name	С	)	10	-120	40
(	80	and	name	С	)	)	(	81	and	name	Ν	)	(	81	and	name	CA	)	(	81	and	name	С	)	10	-120	40
(	82	and	name	С	)	)	(	83	and	name	Ν	)	(	83	and	name	CA	)	(	83	and	name	С	)	10	-120	40
(	83	and	name	С	)	)	(	84	and	name	Ν	)	(	84	and	name	CA	)	(	84	and	name	С	)	10	-120	40
(	84	and	name	С	)	)	(	85	and	name	Ν	)	(	85	and	name	CA	)	(	85	and	name	С	)	10	-120	40
(	88	and	name	С	)	)	(	89	and	name	Ν	)	(	89	and	name	CA	)	(	89	and	name	С	)	10	-120	40
(	89	and	name	С	)	)	(	90	and	name	Ν	)	(	90	and	name	CA	)	(	90	and	name	С	)	10	-120	40

( 91	and	name	С	)	(92	and	name	Ν	)	(92	and	name	CA	)	( 9	2	and	name	С		1	0 –	60	20
(92	and	name	С	)	(93	and	name	Ν	)	(93	and	name	CA	)	( 9	3 8	and	name	С		1	0 -1	20	40
(96	and	name	С	)	(97	and	name	Ν	)	(97	and	name	CA	)	( 9	7	and	name	С		1	0 -1	20	40
(97	and	name	С	)	( 98	and	name	Ν	)	( 98	and	name	CA	)	( 9	8	and	name	С	,	1	0 -1	20	40
(98	and	name	С	)	(99	and	name	Ν	j	(99	and	name	CA	j	( g	19	and	name	С	ŝ	1	0 -1	20	40
(100	and	name	С	)	(101	and	name	Ν	)	(101	and	name	CA	)	(10	1 ;	and	name	С	,	1	0 -1	20	40
(103	and	name	С	)	(104)	and	name	Ν	)	(104	and	name	CA	)	(10	4	and	name	С	1	1	0 -1	20	40
(104	and	name	С	)	(105	and	name	Ν	)	(105	and	name	CA	)	(10	)5 a	and	name	С	,	1	0 –	60	20
(110	and	name	С	)	(111	and	name	Ν	)	(111	and	name	CA	)	(11	.1 ;	and	name	С	1	1	0 -1	20	40
(111	and	name	С	)	(112	and	name	Ν	)	(112	and	name	CA	)	(11	.2 ;	and	name	С		1	0 -1	20	40
(114	and	name	С	)	(115	and	name	Ν	)	(115	and	name	CA	)	(11	.5 ;	and	name	С	,	1	0 -1	20	40
(115	and	name	С	)	(116	and	name	Ν	)	(116	and	name	CA	)	(11	.6	and	name	С	,	1	0 -1	20	40
(116	and	name	С	)	(117	and	name	Ν	)	(117	and	name	CA	)	(11	.7 ;	and	name	С		1	0 -1	20	40
(117	and	name	С	)	(118	and	name	Ν	)	(118	and	name	CA	)	(11	.8	and	name	С	,	1	0 -1	20	40
(118	and	name	С	)	(119	and	name	Ν	)	(119	and	name	CA	)	(11	.9 ;	and	name	С	,	1	0 -1	20	40
(119	and	name	С	)	(120	and	name	Ν	)	(120	and	name	CA	)	(12	20 8	and	name	С		1	0 -1	20	40
(120	and	name	С	)	(121	and	name	Ν	)	(121	and	name	CA	)	(12	21 8	and	name	С	,	1	0 -1	20	40
(124	and	name	С	)	(125	and	name	Ν	)	(125	and	name	CA	)	(12	25 8	and	name	С		1	0 –	60	20
(129	and	name	С	)	(130	and	name	Ν	)	(130	and	name	CA	)	(13	0	and	name	С	,	1	0 –	60	20
(132	and	name	С	)	(133	and	name	Ν	)	(133	and	name	CA	)	(13	3 8	and	name	С		1	0 –	60	20
(133	and	name	С	)	(134	and	name	Ν	)	(134	and	name	CA	)	(13	34 8	and	name	С	,	1	0 –	60	20
(137	and	name	С	)	(138	and	name	Ν	)	(138	and	name	CA	)	(13	88	and	name	С		1	0 –	60	20
(138	and	name	С	)	(139	and	name	Ν	)	(139	and	name	CA	)	(13	9 8	and	name	С		1	0 –	60	20
(139	and	name	С	)	(140	and	name	Ν	)	(140	and	name	CA	)	(14	0	and	name	С		1	0 –	60	20
(140	and	name	С	)	(141	and	name	Ν	)	(141	and	name	CA	)	(14	1 6	and	name	С		1	0 –	60	20
(147	and	name	С	)	(148	and	name	Ν	)	(148	and	name	CA	)	(14	8 8	and	name	С		1	0 –	60	20
(150	and	name	С	)	(151	and	name	Ν	)	(151	and	name	CA	)	(15	51 a	and	name	С	1	1	0 –	60	20
(152	and	name	С	)	(153	and	name	Ν	)	(153	and	name	CA	)	(15	i3 i	and	name	С	1	1	0 -1	20	40
(155	and	name	С	)	(156	and	name	Ν	)	(156	and	name	CA	)	(15	6	and	name	С		1	0 –	60	20

#### 10.5.2.2 Dipolare Kopplungskonstanten

(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	NZ	)	( 2 (500	and	name	ні Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 3	and	name	Ν	)	( 3	and	name	HN	)	-5.90	0.36		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 4	and	name	Ν	)	( 4	and	name	HN	)	-1.32	0.33		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					(7	and	name	Ν	)	(7	and	name	HN	)	-6.91	0.33		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	ý	(500	and	name	Y	j	(500 and	name	Х	)
				,	( 10	and	name	Ν	ý	( 10	and	name	HN	ý	-0.95	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	ý	(500	and	name	Y	ý	(500 and	name	x	)
(				,	(14	and	name	N	ý	(14	and	name	HN	ý	4.30	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	ý	(500	and	name	Y	ý	(500 and	name	x	)
(000	ana	1100.000	00	'	(17	and	name	N	ý	(17)	and	name	ΗN	ś	-7.22	0.32		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	ý	(500	and	name	v	í	(500 and	name	x	)
( 500	ana	manic	00	,	( 18	and	name	N	Ś	( 18	and	name	HN	ś	-6 53	0 51	21	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	7	Ś	(500	and	name	v	Ś	(500 and	name	x	)
( 500	ana	manic	00	,	( 19	and	name	N	Ś	( 19	and	name	HN	Ś	2 37	0 34	21	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	7	Ś	(500	and	name	v	Ś	(500 and	name	x	)
( 500	ana	manic	00	,	( 20	and	name	N	Ś	( 20	and	name	HN	Ś	3 36	0 31	21	,
(500	and	namo	00	)	(500	and	namo	7	, ,	(500	and	namo	v	Ś	(500 and	name	v	)
( 500	anu	name	00	,	( 21	and	name	N		( 200	and	namo	LINI		( 500 and	0 11	л	,
( 500	and	nomo	00	)		and	name	11			and	name	V		(E00 and	0.44	v	)
(500	anu	name	00	)	( 200	and	name	∠ı NT	(	( 200	and	name	TINT		(500 allu	11aiiie	Δ	)
( = 0.0	and		00	`		and	name	11	(		and	name	TIN V		-1.40 (E00 and	0.30	v	``
(500	anu	name	00	)	(500	and	name	<u>ک</u>	(	( 200	and	name	I	,	(500 and		Λ	)
(			~~	`		and	name	IN	)		and	name	HIN	)	-5.31	0.32	37	``
(500	and	name	00	)	(500	and	name	2	)	(500	and	name	1 TINT	)	(500 and	name	X	)
(			~~	`	( 25	and	name	N	)	( 25	and	name	HN	)	-8.88	0.3/		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
(			~~	,	( 26	and	name	N	)	( 26	and	name	HN	)	-7.50	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
( = 0.0	,		~ ~	,	(27	and	name	N	)	( 27	and	name	HN	)	-6.95	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
	-				( 28	and	name	N	)	( 28	and	name	HN	)	-7.40	0.34		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
	-				( 29	and	name	N	)	( 29	and	name	HN	)	-6.08	0.35		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 32	and	name	N	)	( 32	and	name	HN	)	-8.31	0.49		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 34	and	name	Ν	)	( 34	and	name	HN	)	-8.29	0.33		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
	_				( 35	and	name	Ν	)	( 35	and	name	HN	)	-6.39	0.30		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					(36	and	name	Ν	)	(36	and	name	HN	)	-2.05	0.43		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 37	and	name	Ν	)	( 37	and	name	HN	)	8.11	0.37		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 38	and	name	Ν	)	( 38	and	name	HN	)	5.47	0.47		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 39	and	name	Ν	)	( 39	and	name	HN	)	3.47	0.41		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 40	and	name	Ν	)	( 40	and	name	HN	)	6.08	0.35		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 41	and	name	Ν	)	( 41	and	name	HN	)	5.68	0.31		

(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Ζ	) (	(500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	a 00	)	(43 an	d name	N	) (	(43	and	name	HN ) V	-8.98	0.36	v	)
(500	and nam	e 00	,	(44 an	d name	N	) (	(44)	and	name	HN )	-4.79	0.32	А	,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500_and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(45 an (500 an	d name d name	N Z	) (	(500	and and	name	HN ) Y )	-7.75 (500 and	0.34 name	х	)
	_		,	( 46 an	d name	Ν	) (	46	and	name	HN )	-7.49	0.33		
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500 and 16 50	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
( = 0.0	and nom	~ ^^	,	(48 an	d name	N	) (	(48	and	name	HN )	-7.50	0.31	v	,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	N	) (	( 500	and	name	HN )	-9.04	0.31	Λ	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Ζ	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(51 an	d name d name	NZ	) (	(500	and and	name	HN ) Y )	5.84 (500 and	0.36 name	x	)
( 500	und num	00	,	(52 an	d name	N	) (	52	and	name	HN )	-8.35	0.32	21	,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y)	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(		- 00	,	(54 an	d name	N	) (	(54	and	name	HN )	2.68	0.34		,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name d name	N	) (	500	and and	name	Y ) HN )	(500 and 8.53	name 0.32	X	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Ζ	) (	500	and	name	Y )	(500_and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(60 an	d name	NZ	) (	(60	and	name	HN ) V	7.76 (500 and	0.73	x	)
(500	una nam	00	,	(64 an	d name	N	) (	64	and	name	HN )	14.11	0.32	21	,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(65 an	d name d name	N Z	) (	(500	and and	name	HN ) Y )	(500  and)	name	х	)
	_		,	( 66 an	d name	Ν	) (	66	and	name	HN )	11.96	0.50		
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y)	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(		- 00	,	(68 an	d name	N	) (	( 68	and	name	HN )	-0.87	0.36		,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name d name	N	) (	69	and	name	Y ) HN )	(500  and -4.50)	name 0.45	X	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Ζ	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	( 70 an	d name d name	NZ	) (	500	and	name	HN ) Y	-9.71	0.43 name	x	)
( 500	und num	00	,	(71 an	d name	N	) (	(71	and	name	HN )	-7.87	0.43	21	,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
. =			,	(73 an	d name	Ν	) (	73	and	name	HN )	-9.24	0.35		,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name d name	N	) (	(500	and and	name	Y ) HN )	(500  and -8.29)	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	~ ^^	`	(75 an	d name	N	) (	(75	and	name	HN )	-9.37	0.34	v	,
(500	anu nam	e 00	)	(77 an	d name	N	) (	(77)	and	name	HN )	1.12	0.35	Δ	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Ζ	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(78 an	d name d name	NZ	) (	500	and and	name	HN ) Y )	-2.29 (500 and	0.32 name	х	)
				( 80 an	d name	N	) (	80	and	name	HN )	-6.41	0.46		,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y)	(500  and -6.91)	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
( = 0.0	and nom	~ ^^	,	(82 an	d name	N	) (	(82	and	name	HN )	-7.36	0.37	v	,
(500	and nam	e 00	)	(83 an	d name	N	) (	(83)	and	name	HN )	-7.28	0.31	Λ	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Ζ	) (	500	and	name	Y )	(500_and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(84 an	d name d name	NZ	) (	500	and and	name	HN ) Y )	-4.70 (500 and	0.37 name	x	)
(500	-	000	,	(85 an	d name	N	) (	85	and	name	HN )	9.22	0.36		
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name d name	Z	) (	(500	and	name	Y) HN	(500 and 7 76	name 0 31	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
( = 0.0	and nom	~ ^^	,	(87 an	d name	N	) (	(87	and	name	HN )	10.99	0.34	v	,
(500	and nam	e 00	)	(90 an	d name	N	) (	(90)	and	name	HN )	-7.95	0.36	Λ	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(92 an (500 an	d name d name	N Z	) (	(500	and and	name	HN ) Y )	-9.41 (500 and	0.34 name	х	)
				(93 an	d name	N	) (	93	and	name	HN )	-2.80	0.33		ź
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	ZN	) (	(500 (94	and and	name	Y ) HN )	(500 and -6 00	name 0 32	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
( = 0 0	and more	a	١	(96 an	d name	N	) (	96	and	name	HN ) V	-5.31	0.30	v	、
(500	anu nam	2 00	)	(97 an	d name	N	) (	(97	and	name	HN )	-3.79	0.36	Δ	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Ζ	) (	500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	١	(98 an	d name d name	N 7.	) (	98	and and	name name	HN ) Y	1.14 (500 and	0.31 name	x	١
, 500	11ulli	2 00	,	( 99 an	d name	N	) (	( 99	and	name	HN )	-7.91	0.34		,
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y)	(500 and	name	Х	)
(500	and nam	e 00	)	(500 an	d name	Z	) (	(500	and	name	Y )	(500 and	name	Х	)
			,	(101 ar	d name	N	j i	101	and	name	HN Y	-8.90	0.43		

(			~~	``	(			17	``	(	l		37	``	(			37	``
(500	and	name	00	)	(500)	and	name	Ъ N	)	(500)	and	name	Y UN	)	(500	ana	name	X	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	7	)	(500	and	name	Y	Ś	(500	and	name	x	)
( 5 6 6	ana	1101110	00	,	(103	and	name	N	ý	(103	and	name	HN	ý	-8.4	19	0.38		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
	-				(104	and	name	Ν	)	(104	and	name	HN	)	-5.2	21	0.30		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(105)	and	name	IN Z	)	(105)	and	name	HN V		-0.8	and	0.31	x	)
(500	ana	manic	00	,	(106	and	name	N	)	(106	and	name	HN	ý	-4.5	52	0.32	21	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	ý	(500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
	-				(109	and	name	Ν	)	(109	and	name	HN	)	-5.1	.1	0.33		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	namo	00	)	(110	and	name	IN 7	)	(110	and	name	HN V	)	-1.5	94 and	0.31	v	)
(000)	anu	manie	00	)	(111	and	name	N	)	(111	and	name	HN	Ś	-6.4	19	0.35	Λ	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	ý	(500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
					(112	and	name	Ν	)	(112	and	name	HN	)	-4.1	.6	0.37		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	namo	00	)	(113	and	name	IN 7	)	(113	and	name	HN	)	-6.5	ny and	0.30	v	)
(000)	anu	manie	00	)	(114	and	name	N	)	(114)	and	name	HN	Ś	-4.1	1	0.31	Λ	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	ý	(500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
					(115	and	name	Ν	)	(115	and	name	HN	)	-8.3	39	0.34		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	namo	00	)	(116	and	name	IN 7	)	(110	and	name	HN	)	-2.4	19 22d	0.32	v	)
(500	anu	name	00	)	(117	and	name	N	)	(117	and	name	HN	Ś	-7 4	10	0 31	Λ	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	ý	(500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
					(118	and	name	Ν	)	(118	and	name	HN	)	-0.2	24	0.35		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(			~~	,	(119	and	name	N	)	(119	and	name	HN	)	-7.7	12	0.33		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ъ N	)	(500	and	name	1 UN	)	(500	and 0	name 0 35	Å	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	Ś	(500	and	name	Х	)
				,	(121	and	name	Ν	ý	(121	and	name	HN	ý	-7.3	36	0.34		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
( = 0 0	,		~ ~	,	(122	and	name	N	)	(122	and	name	HN	)	-7.7	12	0.33		,
(500	ana	name	00	)	(500)	and	name	Ъ N	)	(500)	and	name	Y HN		(500	ana	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	ý	(500	and	name	х	)
				,	(124	and	name	Ν	ý	(124	and	name	HN	ý	7.2	22	0.78		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(			~~	,	(125	and	name	N	)	(125	and	name	HN	)	-4.9	97	0.31		,
(500	ana	name	00	)	(500)	and	name	Ъ N	)	(500	and	name	Y HN		(500 4 c	ana	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	ý	(500	and	name	х	)
(				,	(128	and	name	N	ý	(128	and	name	HN	ý	-6.6	53	0.34		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(			~~	,	(130	and	name	N	)	(130	and	name	HN	)	13.9	95	0.30	37	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ъ N	)	(500)	and	name	1 UN	)	(500	and 5	name 0 34	Å	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	Ś	(500	and	name	х	)
				,	(133	and	name	Ν	ý	(133	and	name	HN	ý	9.8	39	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(			~~	,	(134	and	name	N	)	(134	and	name	HN	)	14.8	32	0.37	37	,
(500	ana	name	00	)	(500	and	name	Ъ N	)	(500)	and	name	Y UN	)	(500	ana	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	Ś	(500	and	name	х	)
(				,	(136	and	name	N	ý	(136	and	name	HN	ý	4.4	14	0.36		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
( = 0 0	,		~ ~	,	(137	and	name	N	)	(137	and	name	HN	)	14.0	)1	0.30		,
(500	ana	name	00	)	(500)	and	name	Ъ N	)	(500)	and	name	Y HN		(500	and	name 0 41	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500)	and	name	Y	ý	(500	and	name	х	)
(				,	(139	and	name	N	ý	(139	and	name	HN	ý	7.6	58	0.34		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(			~~	,	(140	and	name	N	)	(140	and	name	HN	)	11.7	/4	0.45	37	,
(500	and	name	00	)	(500)	and	name	Ъ N	)	(500)	and	name	Y UN	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
(				,	(143	and	name	N	ý	(143	and	name	HN	ý	13.9	9	0.57		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(			~~	,	(144	and	name	Ν	)	(144	and	name	HN	)	15.5	57	0.60		,
(500	and	name	00	)	(500)	and	name	Ъ NT	)	(500)	and	name	Y LINI	)	(500	ana	name	X	)
(500	and	name	00	)	(500)	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
, - 50				,	(149	and	name	N	ý	(149	and	name	HN	ĵ	10.5	52	0.36	-	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(	T		~~	`	(150	and	name	N	)	(150	and	name	HN	)	13.9	97	0.54	37	、
(500	and	name	00	)	(500)	and	name	Ъ N	)	(500)	and	name	ЦМ	)	(500	and	name	х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	х	)
				,	(152	and	name	Ν	ý	(152	and	name	HN	)	11.4	17	0.33		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
( = 0.0		no	00	`	(153	and	name	N	)	(153	and	name	HN	)	3.5	5 5	0.36	v	`
(500	and	name	00	)	(500 (155	and and	name	Z N	)	(500)	and and	name	1 HN	)	(500 _4 F	and 6	name 0 21	Ā	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500	and	name	х	)
			-	,	(156	and	name	Ν	ý	(156	and	name	HN	ý	-4.6	52	0.31		,

(500	and	name	$\cap \cap$	)	(500	and	name	7	)	(500	and	name	v	)	(500 and	name	x	)
( 500	ana	manic	00	/	( 500	ana	manic	2	,	( 500	ana	manic	-	,	(500 ana	manic	27	/
					(157	and	name	Ν	)	(157	and	name	HN	)	-6.97	0.30		

## 10.5.2.3 Chemische Verschiebungen der <sup>13</sup>Cα- und <sup>13</sup>Cβ-Kerne

(	1	and	name	С	) (	(2	and	name	Ν	)	( 2	and	name	CA	)	(	2	and	name	С	)
,	2	1		a	(	(3	and	name	N	) )	62.2	1 33	.66	<b>C</b> 1	,	,	2			a	,
(	2	and	name	C	) (	( 3	and	name	N	)	57.0	8 41	.92	ĊA	)	(	3	and	name	C	)
(	3	and	name	С	) (	(4	and	name	N	)	( 4	and	name	CA	)	(	4	and	name	С	)
(	4	and	name	С	) (	(5)	and	name	N	)	( 5	and	name	CA	)	(	5	and	name	С	)
(	5	and	namo	C	) (	(6	and	name	N N	)	56.6	6 41	.76	CA	)	(	6	and	namo	C	)
(	J	anu	name	C	, (	(7	and	name	N	)	54.9	0 33	.47	CA	)	(	0	ana	name	C	,
(	6	and	name	С	) (	(7) (8)	and	name	N N	)	( 7	and	name	CA	)	(	7	and	name	С	)
(	7	and	name	С	) (	(8	and	name	N	)	( 8	and	name	CA	)	(	8	and	name	С	)
(	8	and	name	С	) (	(9 (9	and and	name name	N N	)	55.5	7 32 and	.28 name	CA	)	(	9	and	name	С	)
Ì			1100.000	-	(	( 10	and	name	Ν	ý	60.2	9 40	.24		,	,			1101110	-	,
(	9	and	name	С	) (	(10)	and and	name name	N N	)	(10 53.2)	and 2 41	name	CA	)	(	10	and	name	С	)
(	10	and	name	С	) (	( 11	and	name	Ν	ý	( 11	and	name	CA	)	(	11	and	name	С	)
(	11	and	name	С	) (	(12)	and and	name name	N N	)	( 12	2 66 and	.96 name	CA	)	(	12	and	name	С	)
ļ	1.0	-		~	(	(13	and	name	Ν	)	63.3	8 32	.37	~ 7	,	,	10			~	,
(	12	and	name	C	) (	(14)	and and	name name	N N	)	(13	and 7 31	.90	ĊA	)	(	13	and	name	C	)
(	13	and	name	С	) (	(14	and	name	Ν	)	(14	and	name	CA	)	(	14	and	name	С	)
(	14	and	name	С	) (	(15)	and	name	N	)	( 15	and	name	CA	)	(	15	and	name	С	)
,	1 5	1		a	(	(16	and	name	N	) )	66.1	7 31	.76	<b>C</b> 1	,	,	10			a	,
(	15	and	name	C	) (	(16)	and and	name name	N N	)	55.4	and 8 18	.19	ĊA	)	(	10	and	name	C	)
(	16	and	name	С	) (	(17)	and	name	Ν	)	(17	and	name	CA	)	(	17	and	name	С	)
(	17	and	name	С	) (	(18)	and	name	N	)	( 18	∠ 68 and	name	CA	)	(	18	and	name	С	)
,	10	and	<b>n</b> 2 m 0	C	) (	(19	and	name	N	)	58.0	2 42	.31	CA	`	,	10	and	nomo	C	`
(	10	anu	name	C	) (	( 20	and	name	N	)	62.8	3 39	.86	CA	)	(	19	anu	Itallie	C	)
(	19	and	name	С	) (	(20	and	name	N	)	(20	and	name	CA	)	(	20	and	name	С	)
(	20	and	name	С	) (	( 21	and	name	N	)	( 21	and	name	CA	)	(	21	and	name	С	)
(	21	and	name	C	) (	(22)	and	name	N N	)	54.9	8 20 and	.97	CA	)	(	22	and	name	C	)
		unu -	manic	C	(	( 23	and	name	N	)	55.9	9 43	.98	011	,			unu -	manic	C	,
(	22	and	name	С	) (	(23)	and	name	N N	)	(23	and	name	CA	)	(	23	and	name	С	)
(	23	and	name	С	) (	24	and	name	Ν	ý	( 24	and	name	CA	)	(	24	and	name	С	)
(	24	and	name	С	) (	(25)	and	name	N N	)	65.5	2 69 and	.00 name	CA	)	(	25	and	name	С	)
Ì				_	ĺ	26	and	name	Ν	ý	52.5	8 43	.73		, ,	Ì				-	Ś
(	25	and	name	C	) (	(26)	and and	name name	N N	)	(26	and 4 19	name	CA	)	(	26	and	name	C	)
(	26	and	name	С	) (	27	and	name	Ν	)	( 27	and	name	CA	)	(	27	and	name	С	)
(	27	and	name	С	) (	(28)	and and	name	N N	)	( 28	and	.58 name	CA	)	(	28	and	name	С	)
,	20	1		a	(	(29	and	name	N	)	53.9	5 40	.01	<b>C</b> 1	,	,	20	I		a	,
(	20	anu	Italle	C	) (	( 30	and	name	N	)	65.7	2 32	.80	CA	)	(	29	anu	Italle	C	)
(	29	and	name	С	) (	(30	and	name	N	)	( 30	and	name	CA	)	(	30	and	name	С	)
(	30	and	name	С	) (	(31	and	name	N	)	( 31	and	name	CA	)	(	31	and	name	С	)
(	31	and	name	C	) (	(32	and	name	N N	)	64.6	7 31 and	.41	CA	)	(	32	and	name	C	)
(	51	ana	manic	C	, (	(33)	and	name	N	)	56.3	7 33	.33	CA	,	(	52	ana	manic	C	,
(	32	and	name	С	) (	(33)	and	name	N N	)	(33	and	name 38	CA	)	(	33	and	name	С	)
(	33	and	name	С	) (	(34	and	name	N	)	(34	and	name	CA	)	(	34	and	name	С	)
(	34	and	name	С	) (	(35)	and and	name name	N N	)	53.9	1 43 and	.33 name	CA	)	(	35	and	name	С	)
Ì				_	(	36	and	name	Ν	ý	56.4	7 40	.71		, ,	Ì				-	Ś
(	35	and	name	C	) (	(36)	and and	name name	N N	)	(36	and 0 63	name	CA	)	(	36	and	name	C	)
(	36	and	name	С	) (	(37	and	name	Ν	ý	(37	and	name	CA	)	(	37	and	name	С	)
(	37	and	name	С	) (	(38) (38)	and and	name name	N N	)	59.9	/ 40 and	.⊥3 name	CA	)	(	38	and	name	С	)
,	20			c	(	(39	and	name	N	ý	56.2	3 34	.09	07	, ,	,	20			a	,
(	38	ana	name	Ċ	) (	( <u>39</u> ( <u>4</u> 0	and	name	N	)	58.7	and 8 65	.26	CA	)	(	39	and	naile	C.	)
(	39	and	name	С	) (	( 40 ( 41	and	name	N N	)	(40	and	name 71	CA	)	(	40	and	name	С	)
(	40	and	name	С	) (	( 41	and	name	N	)	( 41	and	name	CA	)	(	41	and	name	С	)
(	41	and	name	C	(	(42 (42	and	name name	N N	)	54.2	7 34 and	.32 name	CA	)	(	42	and	name	С	١
`	* *	~u		-	, (	, <u>1</u> 2	u	unit	±*	,	, 12	June		~ 1 1	'	`		~	unic	-	/
(	42	and	name	С	)	(43 (43	and and	name name	N N	)	52.64 37 ( 43 and	.39 name	CA	)	(	43	and	name	С	)	
---	-----	------------------	---------	---	---	--------------	------------	--------------	---------	---	----------------------	-------------	------------	----------	----	------------	------------------	----------	---	----	
`	12	ana	manie	C	,	(44	and	name	N	)	63.95 32	.61	011	,	`	15	una	manic	C	,	
(	43	and	name	С	)	(44	and	name	N N	)	(44 and	name	CA	)	(	44	and	name	С	)	
(	45	and	name	С	)	(45)	and	name	N	)	(46 and	name	CA	)	(	46	and	name	С	)	
,	4.0			a	,	(47	and	name	N	)	52.57 39	.93	<b>C</b> 1	,	,	4.0			a	,	
(	48	and	name	Ċ	)	(49)	and and	name name	N N	)	(49 and 64.92 31	.36	ĊA	)	(	49	and	name	Ċ	)	
(	50	and	name	С	)	( 51	and	name	Ν	)	( 51 and	name	CA	)	(	51	and	name	С	)	
(	51	and	name	C	)	(52)	and	name	N N	)	64.38 69	.85 name	CA	)	(	52	and	name	C	)	
`	51	ana	manic	C	,	(53	and	name	N	)	60.13 39	.44	011	,	`	52	una	manic	C	,	
(	52	and	name	С	)	(53	and	name	N	)	(53 and	name	CA	)	(	53	and	name	С	)	
(	53	and	name	С	)	(54)	and	name	N	)	(54 and	name	CA	)	(	54	and	name	С	)	
,	ΕΛ	and		a	)	(55	and	name	N	)	54.79 35	.78	<b>CN</b>	`	,		and		a	`	
(	54	anu	Italle	C	,	(55)	and	name	N	)	61.11 39	.90	CA	)	(	22	anu	Italle	C	)	
(	55	and	name	С	)	(56	and	name	N	)	( 56 and	name	CA	)	(	56	and	name	С	)	
(	56	and	name	С	)	(57)	and and	name name	N N	)	62.09 69 (57 and	.28 name	CA	)	(	57	and	name	С	)	
Ì					,	( 58	and	name	N	)	55.68 41	.16		,	Ì.					ĺ.	
(	57	and	name	С	)	(58 (59	and	name	N N	)	(58 and 53 56 44	name 63	CA	)	(	58	and	name	С	)	
(	58	and	name	С	)	(59	and	name	N	)	( 59 and	name	CA	)	(	59	and	name	С	)	
,	ΕO	and		a	`	(60	and	name	N	)	56.04 33	.44	<b>CN</b>	`	,	60	and		a	`	
(	59	anu	name	C	,	( 61	and	name	N	)	55.79 39	.89	CA	)	(	00	anu	Itallie	C	)	
(	61	and	name	С	)	( 62	and	name	N	)	( 62 and	name	CA	)	(	62	and	name	С	)	
(	62	and	name	С	)	(63)	and and	name	N N	)	63 and	.60 name	CA	)	(	63	and	name	С	)	
Ì					,	64	and	name	N	)	63.57 68	.61		,	Ì.					ĺ.	
(	63	and	name	С	)	(64 (65	and	name	N N	)	(64 and 54.22 36	name	CA	)	(	64	and	name	С	)	
(	64	and	name	С	)	(65)	and	name	N	)	( 65 and	name	CA	)	(	65	and	name	С	)	
,	65	and	nomo	C	`	(66	and	name	N	)	55.68 42	.85	CA	`	,	66	and	n	C	)	
(	0.5	anu	name	C	,	(67	and	name	N	)	60.57 36	.36	CA	)	(	00	anu	Itallie	C	)	
(	66	and	name	С	)	(67	and	name	N	)	( 67 and	name	CA	)	(	67	and	name	С	)	
(	67	and	name	С	)	(68) (68)	and and	name name	N N	)	( 68 and	.82 name	CA	)	(	68	and	name	С	)	
,	6.0	-		~	,	( 69	and	name	N	)	52.47 34	.75	~ ~	,	,	<i>c</i> 0			ä	,	
(	68	and	name	C	)	(69) (70)	and and	name	N N	)	( 69 and 53.91 36	.79	ĊA	)	(	69	and	name	C	)	
(	69	and	name	С	)	(70	and	name	N	)	( 70 and	name	CA	)	(	70	and	name	С	)	
(	70	and	name	С	)	(71) (71)	and	name	N N	)	61.88 36 (71 and	.36 name	CA	)	(	71	and	name	С	)	
`	70	ana	manie	C	,	(72	and	name	N	)	57.25 29	.40	011	,	`	, -	una	manic	C	,	
(	71	and	name	С	)	(72	and	name	N	)	(72 and	name	CA	)	(	72	and	name	С	)	
(	72	and	name	С	)	(73)	and	name	N	)	(73 and	name	CA	)	(	73	and	name	С	)	
,	72	and		a	`	(74	and	name	N	)	62.33 42	.62	<b>CN</b>	`	,	74	and		a	`	
(	15	anu	Italle	C	,	(74)	and	name	N	)	51.66 40	.80	CA	)	(	/4	anu	Italle	C	)	
(	74	and	name	С	)	(75	and	name	N	)	(75 and	name	CA	)	(	75	and	name	С	)	
(	75	and	name	С	)	(76)	and	name	N N	)	(76 and	.// name	CA	)	(	76	and	name	С	)	
į				_		( 77	and	name	Ν	)	54.71 18	.44		,	,				-	,	
(	76	and	name	C	)	(77)	and and	name	N N	)	( // and 52.01 39	.60	CA	)	(	11	and	name	C	)	
(	77	and	name	С	)	(78	and	name	N	)	( 78 and	name	CA	)	(	78	and	name	С	)	
(	79	and	name	С	)	(79) (80)	and	name	N N	)	55.80 38 ( 80 and	.79 name	CA	)	(	80	and	name	С	)	
			1101110	0	,	(81	and	name	N	)	57.29 42	.00	011	<i>.</i>	Ì			1100.000	0		
(	80	and	name	С	)	(81	and	name	N N	)	( 81 and	name	CA	)	(	81	and	name	С	)	
(	81	and	name	С	)	(82	and	name	N	)	(82 and	name	CA	)	(	82	and	name	С	)	
,	0.0	and		a	)	(83	and	name	N	)	55.88 41	.11	<b>CN</b>	`	,	0.2	and		a	`	
(	02	anu	Italle	C	)	(84	and	name	N	)	56.07 65	.78	CA	)	(	03	anu	Italle	C	)	
(	83	and	name	С	)	(84	and	name	N	)	(84 and	name	CA	)	(	84	and	name	С	)	
(	84	and	name	С	)	(85)	and and	name name	N N	)	62.94 32 (85 and	.62 name	CA	)	(	85	and	name	С	)	
Ì		_			,	(86	and	name	Ν	)	60.19 32	.98		,	Ì					,	
(	87	and	name	С	)	(88) (89)	and	name	N N	)	(88 and 54.42 19	name	CA	)	(	88	and	name	С	)	
(	88	and	name	С	)	( 89	and	name	N	)	( 89 and	name	CA	)	(	89	and	name	С	)	
(	89	and	name	С	)	(90) (90)	and	name	N N	)	51.65 20	.63	CA	١	í	90	and	name	С	)	
(	59	unu	manne	C	,	(91	and	name	N	)	53.42 43	.27	CA	,	(	20	unu	manne	C	,	
(	90	and	name	С	)	(91 (02	and	name	N N	)	(91 and	name 76	CA	)	(	91	and	name	С	)	
(	91	and	name	С	)	(92) (92)	and	name	N	)	(92 and	name	CA	)	(	92	and	name	С	)	
,	0.0	~~- <sup>2</sup>	2022	C	`	(93	and	name	N	)	57.03 40	.78	<b>C</b> 7	`	,	0.7	~~- <sup>-</sup>	2022	c	`	
(	92	ana	naile	C	)	、93 (94	and	name	N	)	( 93 and 61.52 69	.52	CA	)	(	93	ana	naile	L	)	
(	93	and	name	С	)	(94	and	name	N	)	(94 and	name	CA	)	(	94	and	name	С	)	
(	94	and	name	С	)	(95) (95)	and and	name	IN N	)	(95 and	./⊥ name	CA	)	(	95	and	name	С	)	
														-	-					-	

(	95	and	name	С	)	(96 (96	and and	name name	N N	)	57.1	2 31 and	.77 name	CA	)	(96	and	name	С	)
Ì				~	,	(97	and	name	N	ý	56.2	1 35	.26	~~	,				~	,
(	96	and	name	C	)	(97)	and and	name	N N	)	60.7	and 3 41	.39	ĊA	)	(97	and	name	Ċ	)
(	97	and	name	С	)	(98	and	name	N N	)	(98 62 4	and 2 71	name 09	CA	)	(98	and	name	С	)
(	98	and	name	С	)	(99	and	name	N	)	( 99	and	name	CA	)	(99	and	name	С	)
(	99	and	name	С	)	(100)	and and	name name	N N	)	(100	9 40 and	.80 name	CA	)	(100	and	name	С	)
,	100	and	nomo	C	,	(101	and	name	N	) )	53.4	6 43	.65	CA	,		and	n	C	,
(	100	anu	Italle	C	)	(101)	and	name	N	)	57.5	8 66	.74	CA	)	(101	anu	Itallie	C	)
(	101	and	name	С	)	(102)	and and	name name	N N	)	(102	and 1 35	name	CA	)	(102	and	name	С	)
(	102	and	name	С	)	(103	and	name	N	) )	(103	and	name	CA	)	(103	and	name	С	)
(	103	and	name	С	)	(104) $(104)$	and	name	N	)	(104)	and	name	CA	)	(104	and	name	С	)
(	104	and	name	С	)	(105)	and and	name name	N N	)	59.1· (105	4 36 and	.16 name	CA	)	(105	and	name	С	)
,	106	and	nomo	C	,	(106	and	name	N	)	53.4	8 18	.58	CA	,		and	n	C	,
(	100	anu	Italle	C	)	(107)	and	name	N	)	64.2	7 32	.05	CA	)	(107	anu	Italle	C	,
(	107	and	name	С	)	(108)	and and	name	N N	)	$(108 \\ 53.0$	and 0 38	name	CA	)	(108	and	name	С	)
(	110	and	name	С	)	(111	and	name	N	) )	(111	and	name	CA	)	(111	and	name	С	)
(	111	and	name	С	)	(112) $(112)$	and	name	N	)	(112	and	name	CA	)	(112	and	name	С	)
(	113	and	name	С	)	(113)	and and	name name	N N	)	50.3	8 21 and	.76 name	CA	)	(114	and	name	С	)
,	114			- -	,	(115	and	name	N	ý	55.3	8 35	.88		,	(115			a	, ,
(	114	and	name	C	)	(115)	and and	name name	N N	)	(115 53.4	and 5 45	.04	ĊA	)	(115	and	name	Ċ	)
(	115	and	name	С	)	(116)	and and	name name	N N	)	(116	and	name	CA	)	(116	and	name	С	)
(	116	and	name	С	)	(117	and	name	N	)	(117	and	name	CA	)	(117	and	name	С	)
(	117	and	name	С	)	(118) $(118)$	and and	name	N N	)	(118	and	.52 name	CA	)	(118	and	name	С	)
(	118	and	name	C	)	(119)	and	name	N N	)	54.7	4 34 and	.30	CA	)	(119	and	name	C	)
,	110	ana	manic	~	,	(120	and	name	N	)	57.3	4 41	.61	<b>C</b> 11	,	(100	unu	manie	C	,
(	119	and	name	C	)	(120)	and and	name name	N N	)	(120	and 1 30	name.92	CA	)	(120	and	name	C	)
(	120	and	name	С	)	(121	and	name	N N	)	(121	and	name	CA	)	(121	and	name	С	)
(	121	and	name	С	)	(122	and	name	N	)	(122	and	name	CA	)	(122	and	name	С	)
(	123	and	name	С	)	(123) $(124)$	and and	name name	N N	)	(124	3 33 and	.24 name	CA	)	(124	and	name	С	)
(	124	and	name	C	)	(125)	and	name	N N	)	54.0	3 41 and	.15 name	CA	)	(125	and	name	C	)
,		ana	manic	-	,	(126	and	name	N	)	52.5	6 19	.77	~	,	(125	unu	manie	-	,
(	125	and	name	С	)	(126) $(127)$	and and	name name	N N	)	(126	and 1 30	name	CA	)	(126	and	name	C	)
(	126	and	name	С	)	(127)	and	name	N N	)	(127	and	name 46	CA	)	(127	and	name	С	)
(	127	and	name	С	)	(128	and	name	N	)	(128	and	name	CA	)	(128	and	name	С	)
(	128	and	name	С	)	(129 (129	and and	name name	N N	)	51.6 (129	9 39 and	.13 name	CA	)	(129	and	name	С	)
1	120	and	namo	C	)	(130	and	name	N N	)	59.2	6 28	.52	CA	)	(130	and	name	C	)
(	129	ana	manie	C	,	(131	and	name	N	)	57.6	5 40	.39	CA	,	(150	anu	name	C	,
(	130	and	name	С	)	(131) $(132)$	and and	name name	N N	)	(131	and 0 29	name	CA	)	(131	and	name	C	)
(	131	and	name	С	)	(132	and	name	N N	) )	(132	and	name 58	CA	)	(132	and	name	С	)
(	132	and	name	С	)	(133	and	name	N	)	(133	and	name	CA	)	(133	and	name	С	)
(	133	and	name	С	)	(134) (134)	and and	name name	N N	)	(134	and and	.39 name	CA	)	(134	and	name	С	)
(	125	and	name	C	)	(135	and	name	N N	)	66.3	4 68 and	.88 name	CA	)	(136	and	name	C	)
(	100	ana	manie	C	,	(137	and	name	N	)	59.0	4 33	.21	CA	,	(150	anu	name	C	,
(	136	and	name	С	)	(137)	and and	name name	N N	)	(137)	and 1 18	name.40	CA	)	(137	and	name	C	)
(	137	and	name	С	)	(138	and	name	N N	)	(138	and	name 86	CA	)	(138	and	name	С	)
(	138	and	name	С	)	(139	and	name	N	)	(139	and	name	CA	)	(139	and	name	С	)
(	139	and	name	С	)	(140) $(140)$	and and	name name	N N	)	(140	and	.59 name	CA	)	(140	and	name	С	)
(	140	and	name	C	)	(141	and	name	N N	)	56.1 (141	0 40	.88 name	C۵	)	(141	and	name	C	Ň
`	1 4 7		mand	~	,	(142	and	name	N	)	55.2	2 18	.13	сл ат	,	(140			c	,
(	14⊥	and	name	C	)	(142) (143)	and and	name name	N N	)	(142 58.4	and 1 41	name .62	ĊA	)	(142	and	name	C	)
(	142	and	name	С	)	(143 (144	and and	name name	N N	)	(143 62 1	and	name	CA	)	(143	and	name	С	)
(	143	and	name	С	)	(144	and	name	N	)	(144	and	name	CA	)	(144	and	name	С	)
(	144	and	name	С	)	(145) (145)	and and	name name	N N	)	58.41 (145	⊿ 31 and	./8 name	CA	)	(145	and	name	С	)
(	145	and	name	С	)	(146	and and	name name	N N	)	54.9 (146	6 18 and	.11 name	CA	١	(146	and	name	С	١
1		~		-	,	· - 10	u		-1	,	· - 10	June	unic	~ 1	,	, - 10	~		-	,

					(147	and	name	Ν	)	65.3	9 36	.78							
(146	and	name	С	)	(147	and	name	Ν	)	(147	and	name	CA	)	(147	and	name	С	)
					(148	and	name	Ν	)	60.5	B 30	.37							
(147	and	name	С	)	(148	and	name	Ν	)	(148	and	name	CA	)	(148	and	name	С	)
					(149	and	name	Ν	)	55.2	3 17	.87							
(148	and	name	С	)	(149	and	name	Ν	)	(149	and	name	CA	)	(149	and	name	С	)
					(150	and	name	Ν	)	62.3	2 38	.39							
(149	and	name	С	)	(150	and	name	Ν	)	(150	and	name	CA	)	(150	and	name	С	)
	_				(151	and	name	Ν	)	57.9	7 40	.91				_			
(150	and	name	С	)	(151	and	name	Ν	)	(151	and	name	CA	)	(151	and	name	С	)
	-				(152	and	name	Ν	)	57.3	5 41	.59				_			
(151	and	name	С	)	(152	and	name	Ν	)	(152	and	name	CA	)	(152	and	name	С	)
	-		-		(153	and	name	Ν	)	52.1	5 T8	.95				-		_	
(152	and	name	C	)	(153	and	name	Ν	)	(153	and	name	CA	)	(153	and	name	C	)
(150	-		~	,	(154	and	name	N	)	56.0	L 27	.64	~ 7	,	(1 = 4	-		~	,
(153	and	name	C	)	(154	and	name	N	)	(154	and	name	ĊA	)	(154	and	name	C	)
(1 - 4			a	,	(155	and	name	N	)	64.5	3 31	• 77	~	,	(155			a	,
(154	and	name	C	)	(155	and	name	N	)	(155	and	name	ĊA	)	(155	and	name	C	)
(155			a	,	(156	and	name	N	)	53.8	9 39	.93	~	,	(150			a	,
(122	and	name	C	)	(150	and	name	IN	)	(150	and	name	ĊA	)	(120	and	name	C	)
					(15/	ana	name	IN	)	00.00	5 37	.ŏ⊥							

## 10.5.3 Experimentelle Randbedingungen für Bet v 4

## 10.5.3.1 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D-1H,15N-NOESY-HSQC

(	2	and	name	HN	)	(	1	and	name	HA	)	3.	.5 (	( 2	and	name	HN	) (	1	and	name	HB*	)	5.0
ì	2	and	namo	LINI	ś	ì	2	and	name	uл	í.	2	5 /	i o	and	namo	UN	i i	2	and	name	UD1	ś	5 0
)	2	ana	manic	TIN	(	>	2	ana	manic	IIA IIDO	(	5.		2	ana	manic	1111		2	and	manic	TID *	(	5.0
(	2	and	name	HN	)	(	2	ana	name	HBZ	)	5.	.0 (	. 2	ana	name	HN	) (	3	ana	name	HB v	)	5.0
(	3	and	name	HN	)	(	1	and	name	HB*	)	5.	.0 (	(3	and	name	HN	) (	2	and	name	HA	)	3.5
í	3	and	name	HN	)	í	2	and	name	HN	)	5	0 (	3	and	name	HN	) (	3	and	name	ЧΔ	)	35
ì	2	and	manic	TINT	ί.	ì	2	and	manue	IID +	ζ.	2.			and	manne	TINT		4	and	manue	TINT		- O
(	3	and	name	HN	)	(	3	ana	name	нв^	)	3.	.5 (	3	ana	name	HN	) (	4	and	name	HN	)	5.0
(	4	and	name	HN	)	(	3	and	name	HA	)	3.	.5 (	(4	and	name	HN	) (	3	and	name	HB*	)	5.0
(	4	and	name	HN	)	(	4	and	name	HA	)	3.	.5 (	4	and	name	HN	) (	4	and	name	HB1	)	5.0
ì	1	and	nomo	LINT	ś	ì	1	and	n 0 m 0	<u>ир</u> 2	ś	2	5	i a	and	nomo	LINT	ί ζ	1	and	n 0 m 0	<u>и</u> р2	ś	5 0
Ś	7	anu	name	FIN	(	Ş	7	anu	Itallie	пва	(	5.	.5 (	-	anu	name	FIN	( )	4	anu	Itallie	HDZ	(	5.0
(	4	and	name	HN	)	(	5	and	name	HD*	)	5.	.0 (	( 4	and	name	HN	) (	6	and	name	HBT	)	5.0
(	4	and	name	HN	)	(	6	and	name	HN	)	5.	.0 (	( 4	and	name	HN	) (	7	and	name	HB1	)	5.0
ì	4	and	name	HN	ý	i	7	and	name	HB2	) I	5	0	6	and	name	HE21	) (	6	and	name	HB1	Ś	5 0
)	ź	and	manne	1110	ί.	>	ć	and	manne	TID 2	ί.	-			and	manic	11021		ć	and	manne	TID1	(	0.0
(	6	and	name	HEZI	)	(	6	ana	name	HBZ	)	5.	.0 (	6	ana	name	HEZI	) (	6	and	name	HG^	)	2.1
(	6	and	name	HE22	)	(	6	and	name	HB1	)	5.	.0 (	(6	and	name	HE22	) (	6	and	name	HB2	)	5.0
(	6	and	name	HE22	)	(	6	and	name	HG*	)	3.	.5 (	6	and	name	HE22	) (	6	and	name	HN	)	5.0
ì	6	and	namo	UN	ś	ì	Ā	and	name	цл	ś	5	n i	6	and	namo	UN	í ì	Ā	and	name	UD1	ś	5 0
Ś	0	anu	manie	1110	(	Ş	-	anu	manie	IIA	(	5.	.0 (		anu	manie	1111	( )	-	anu	manie	TIDI	(	5.0
(	6	and	name	HN	)	(	4	and	name	HB2	)	5.	.0 (	6	and	name	HN	) (	5	and	name	HA	)	3.5
(	6	and	name	HN	)	(	5	and	name	HB1	)	5.	.0 (	6	and	name	HN	) (	5	and	name	HB2	)	3.5
ì	6	and	name	HN	ý	i	5	and	name	HD1	) I	5	0	6	and	name	HN	) (	5	and	name	HD2	Ś	5 0
ì	ĉ	and	manic	TINT	ί.	ì	5	and	manue	1101	ζ.				and	manne	TINT		ć	and	manue	1122		2.0
(	ю	and	name	HIN	)	(	5	and	name	HG *	)	э.	.0 (	0	and	name	HIN	) (	0	and	name	HA	)	3.5
(	6	and	name	HN	)	(	6	and	name	HB1	)	2.	.7 (	(6	and	name	HN	) (	6	and	name	HB2	)	3.5
(	6	and	name	HN	)	(	6	and	name	HG*	)	3.	.5 (	(7	and	name	HN	) (	4	and	name	HB1	)	5.0
ì	7	and	namo	LINI	ś	ì	Ā	and	name	UD2	ś	5	n i	. 7	and	namo	UN	í ì	5	and	name	<u>ил</u>	ś	5 0
Ś		anu	manie	1110	(	Ş	Ţ	anu	manie	1162	(	5.		, <u>'</u>	anu	manie	1111	( )	5	anu	manie	117	(	5.0
(	1	and	name	HN	)	(	6	and	name	HA	)	3.	.5 (		and	name	HN	) (	6	and	name	HBT	)	3.5
(	7	and	name	HN	)	(	6	and	name	HB2	)	3.	.5 (	(7	and	name	HN	) (	6	and	name	HG*	)	5.0
í	7	and	name	HN	)	í	6	and	name	HN	)	3	5 (	7	and	name	HN	) (	7	and	name	ЧΔ	)	35
ì		and	nomo	LINT	ś	ì	7	and	nomo	UD1	ί.	2	5 /		and	nomo	LINT	í í		and	nomo	UD 2	ś	5.0
Ś		anu	name	LIN	!	Ś		anu	Itallie	пы	?	5.	.5 (		anu	name	FIIN	(		anu	Itallie	пра	?	5.0
(	.7	and	name	HN	)	(	8	and	name	HB*	)	5.	.0 (	( 7	and	name	HN	) (	10	and	name	HG*	)	5.0
(	8	and	name	HN	)	(	5	and	name	HA	)	5.	.0 (	( 8	and	name	HN	) (	6	and	name	HA	)	5.0
ì	8	and	name	HN	ś	ì	6	and	name	HN	í.	5	0	, A	and	name	HN	i i	7	and	name	НΣ	ś	3 5
ì	0	and	manic	TINT	ί.	ì	, ,	and	manue	1101	ζ.	2.			and	manne	TINT		,	and	manue	1100		- O
(	8	and	name	HIN	)	(	/	and	name	HBI	)	3.	.5 (	8	and	name	HIN	) (	/	and	name	HBZ	)	5.0
(	8	and	name	HN	)	(	8	and	name	HA	)	3.	.5 (	(8)	and	name	HN	) (	8	and	name	HB*	)	2.7
(	8	and	name	HN	)	(	8	and	name	HD*	)	5.	.0 (	8	and	name	HN	) (	8	and	name	HG1	)	3.5
ì	ŏ	and	nomo	LINT	ś	ì	õ	and	nomo	102	ί.	2	5 /	i o	and	nomo	LINT	í í	ä	and	nomo	UD*	ś	5.0
Ś	0	anu	name	LIN	!	Ś		anu	Itallie	ндz	?	5.	.5 (	0	anu	name	FIIN	(	2	anu	Itallie	пр	?	5.0
(	8	and	name	HN	)	(	10	and	name	HN	)	5.	.0 (	9	and	name	HN	) (	5	and	name	HA	)	5.0
(	9	and	name	HN	)	(	6	and	name	HA	)	5.	.0 (	(9	and	name	HN	) (	7	and	name	HA	)	5.0
í	9	and	name	HN	)	í	7	and	name	HB1	)	5	0 (	9	and	name	HN	) (	8	and	name	ЧΔ	)	35
ì	6	and	nomo	TINT	{	ì	ó	and	nomo	IID±	ί.	· .			and	nomo	TINT		0	and	nomo	1117		E 0
(	9	ana	Itallie	HIN	2	(	0	ana	Itallie	пв.	/	4.	. /	9	ana	name	HIN	) (	0	ana	Itallie	HD.	)	5.0
(	9	and	name	HN	)	(	8	and	name	HGI	)	5.	.0 (	( 9	and	name	HN	) (	8	and	name	HG2	)	5.0
(	9	and	name	HN	)	(	9	and	name	HA	)	3.	.5 (	(9	and	name	HN	) (	9	and	name	HB*	)	2.7
í	9	and	name	HN	)	í	10	and	name	HG*	)	5	0 (	9	and	name	HN	) (	10	and	name	HN	)	27
ì	<u>_</u>	and	manic	TINT	ί.	ì	11	and	manue	TINT	ζ.			10	and	manne	TINT			and	manue	117		
(	9	and	name	HN	)	(	ΤT	ana	name	HN	)	5.	.0 (	LU IU	ana	name	HN	) (	6	and	name	HA	)	5.0
(	10	and	name	HN	)	(	7	and	name	НA	)	5.	.0 (	( 10	and	name	HN	) (	7	and	name	HB2	)	5.0
(	10	and	name	HN	)	(	8	and	name	HA	)	5.	.0 (	10	and	name	HN	) (	9	and	name	HA	)	3.5
ì	10	and	namo	LINI	ś	ì	ā	and	name	UD*	ś	2	7	10	and	namo	UN	í ì	10	and	name	uл	ś	3 5
Ś	10	anu	manie	1110	(	Ş	10	anu	manie	IID	(	4.			anu	manie	1111	( )	10	anu	manie	117	(	5.5
(	10	and	name	HN	)	(	10	and	name	HBI	)	2.	.7 (	( <u>1</u> 0	and	name	HN	) (	10	and	name	HB2	)	5.0
(	10	and	name	HN	)	(	10	and	name	HG*	)	3.	.5 (	( 10	and	name	HN	) (	11	and	name	HN	)	2.7
í	10	and	name	HN	)	í	12	and	name	HN	)	5	0 (	10	and	name	HN	) (	13	and	name	HD1	)	5 0
ì	10	and	nome	LINT	ί	ì	11	and	nomo	UD1*	ś	5	0	11	and	nome	UF	$\langle \rangle$		and	nomo	U7	ś	5.0
ļ	τU	and	name		!	ļ	14	and	name	пD1	!	э.	.0 (		and	name	пь 	(	0	and	name	riA 0		5.0
(	11	and	name	ΗE	)	(	11	and	name	HB1	)	5.	.0 (	( 11	and	name	HE	) (	11	and	name	HB2	)	5.0
(	11	and	name	HE	)	(	11	and	name	HD1	)	3.	.5 (	( 11	and	name	HE	) (	11	and	name	HD2	)	3.5
i	11	and	name	HE	)	i	11	and	name	HG1	)	3	5 /	11	and	name	HE	) (	11	and	name	HG2	j	3 5
;	11	0.00	nomi	TID	{	>	11	02.2	nomic	TINT	{	г.	0	( 11	0.00	neme	TIE	$\langle \rangle$	<u> </u>	or -7	nomic	117	~	5.5
(	ΤŢ	and	name	пь	1	(	11	and	name	TIN	!	э.	(	LT I	and	name	HĽ	) (	/ ه	and	name	НΑ	)	5.0
(	11	and	name	HE	)	(	67	and	name	HG2*	)	3.	.5 (	( 11	and	name	HN	) (	7	and	name	HA	)	5.0
(	11	and	name	HN	)	(	8	and	name	HA	)	3.	.5 (	( 11	and	name	HN	) (	8	and	name	HB*	)	5.0
ì	11	and	name	HN	í	ì	Ř	and	name	HG*	í	5	0	11	and	name	HN	j i	ã	and	name	НΔ	ś	5 0
;	17	and	manne -	TINT	{		0	and	induite	110 *	(			( 11		in and -	TINT	$\langle \rangle$	10	and	induite	112	{	2.0
(	ΤT	and	name	LIN	)	(	9	and	name	чв,	)	э.	.0 (	ίLΤ	and	name	HIN	) (	τU	and	name	HА	)	3.5

( 11 and name HN	) ( 10 and name HB1	) 2.7	( 11 and	name HN	) ( 10	and nam	eHB2)	5.0
(11 and name HN	) ( 10 and name HG*	5 0	(11 and	name HN	) (11	and nam		35
		, 5.0	( 11 0110		) (			5.5
( 11 and name HN	) ( II and name HBI	) 3.5	( 11 and	name HN	) ( 11	and nam	енвг )	5.0
( 11 and name HN	) ( 11 and name HD1	) 5.0	( 11 and	name HN	) ( 11	and nam	eHD2)	5.0
(11 and name UN	(11) and name $HC1$	) 2 7	( 11 and	nomo UN	(1)	and nam		2 5
		/ 2./	( II and	name niv	) ( 11		engz /	5.5
( 11 and name HN	) ( 14 and name HD1*	) 5.0	( 11 and	name HN	) ( 63	and nam	eHE* )	5.0
(12 and name HN	) ( 8 and name HA	5 0	(12 and	name HN	) ( 8	and nam	e HR* )	5 0
		, 5.0	( 12 and					2.0
( 12 and name HN	) ( 8 and name HG*	) 5.0	( 12 and	name HN	) ( 9	and nam	eha)	3.5
(12 and name HN	) ( 9 and name HB*	) 5.0	(12 and	name HN	) ( 9	and nam	eHN)	5.0
(1) and name IN	) ( 10 and name II)	) F 0	(10 and	in a mag TINT	, ,		- TTA )	2.5
( 12 and name HN	) ( IU and name HA	) 5.0	( IZ and	name AN	) (	and nam	е па )	5.5
( 12 and name HN	) ( 11 and name HB1	) 3.5	( 12 and	name HN	) ( 11	and nam	eHB2)	3.5
(1) and name UN	(11) and name $UC2$	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	( 12 and	namo UN	, , , 11	and nom		2 5
( 12 and name HN	) ( II and name HGZ	) 5.0	( IZ and	name AN	) (	and nam	enn )	5.5
( 12 and name HN	) ( 12 and name HA	) 3.5	( 12 and	name HN	) ( 12	and nam	eHB1)	3.5
(1) and name IN	(1) and name IID	) 2 E	( 12 and	nome UN	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	and nom		2 5
	) ( IZ and name HBZ	1 3.5	( IZ anu		) ( 12	anu nam	e ngi )	5.5
( 12 and name HN	) ( 12 and name HG2	) 5.0	( 12 and	name HN	) ( 15	and nam	eHB1)	5.0
(12 and name UN	63 and name UF*	ί <u></u> 5 Ο	1 12 and	name UN	) <i>i</i> 63	and nam		5 0
		, 5.0		manie mi	) ( 03			5.0
( 13 and name HE	) ( 13 and name HBl	) 5.0	( 13 and	name HE	) ( 13	and nam	eHB2)	5.0
(13 and name UF	(13 and name UD1	1 3 5	1 13 and	name UF	, i 13	and nam		35
		, 5.5	( 15 and	manie mis	/ ( 13			5.5
( 13 and name HE	) ( 13 and name HGI	) 5.0	(13 and	name HE	) ( 13	and nam	eHG2)	3.5
(13 and name HE	) ( 13 and name HH*	) 3.5	(13 and	name HH*	) (13	and nam	е HD* )	3.5
		) 5.5	( 12	1104110 1111	, ( 10		- 112 )	2.5
(13 and name HN	) ( 9 and name HA	) 5.0	( 13 and	name HN	) ( 10	and nam	ена )	3.5
(13 and name HN	) ( 11 and name HA	) 5.0	(13 and	name HN	) ( 11	and nam	eHN)	5.0
(12 and name UN	$(1)$ and name $\Pi$	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	12 and	namo UN	, <i>i</i> 10	and nam		F 0
		) 3.5	( 15 and		) ( 12		е пы /	5.0
( 13 and name HN	) ( 12 and name HB2	) 5.0	( 13 and	name HN	) ( 12	and nam	eHG2)	5.0
(13 and name UN	) (12 and name UN	3 3 5	( 13 and	name UN	) ( 13	and nam		35
		,	( 12 and		, , 10	and nall		5.5
( 13 and name HN	) ( 13 and name HB*	) 2.7	( 13 and	name HN	) ( 13	and nam	еныі)	5.0
(13 and name HN	) ( 13 and name HD2	) 5.0	( 13 and	name HN	) ( 12	and nam	e HG2 )	3 5
( 12 and		, <u> </u>	( 12	nome III	, , ±3 , , , , , , ,	IIG	······································	
(13 and name HN	, ( 14 and name HB	1 5.0	( 13 and	name HN	) (63	ana nam	е ны^ )	5.0
( 14 and name HN	) ( 11 and name HA	) 3.5	( 14 and	name HN	) (12	and nam	eHA)	5.0
(14 and nome the	) (1) and now III	) E 0	/ 1/ 7		) / 17	and	о цу , ,	2.5
Lite and name HN	, iz and name HN	1 3.0	( 14 and	name HN	, ( <u>1</u> 3	ana nam	епа )	3.5
( 14 and name HN	) ( 13 and name HB*	) 2.7	( 14 and	name HN	) (13	and nam	e HD2 )	5.0
(14 and name IN	(13  and  name 1100)	) = 0	(11	namo UM	) / 17	and		2 7
, it and hame HN	, is and name HGZ	, 5.0	<u>, 14</u> and	Hame HN	, ( <u>1</u> 3	ana nam		4.1
( 14 and name HN	) ( 14 and name HA	) 3.5	( 14 and	name HN	) ( 14	and nam	eHB)	2.7
(14 and name UN	) (14 and name UD1*	) 25	( 14 and	name um	) / 1/	and nam	e HC11 V	2 5
		,	( 14 J	manic IIIV	, ( <u>1</u> 4	and nall	C 11GTT /	5.0
( 14 and name HN	) ( 14 and name HG12	) 3.5	( 14 and	name HN	) ( 14	and nam	e HG2* )	5.0
( 14 and name HN	) ( 15 and name HB1	) 5 0	( 14 and	name HN	) ( 16	and nam	O HR* )	5 0
		, 5.0	( 14			and nam		5.0
(14 and name HN	) ( 16 and name HN	) 5.0	(14 and	name HN	) ( 63	ana nam	ены^)	5.0
( 15 and name HN	) ( 11 and name HA	) 5.0	(15 and	name HN	) (12	and nam	eHA)	3.5
		) 5.0	( 15 and	1104110 1111	, ( 10		- 1111 )	F 0
(15 and name HN	) ( 12 and name HN	) 5.0	( 15 and	name HN	) ( 13	and nam	ehn)	5.0
( 15 and name HN	) ( 14 and name HA	) 5.0	( 15 and	name HN	) ( 14	and nam	eHB)	2.7
(15 and name UN	) (11 and name UD1*	) 5 0	( 15 and	nomo UN	, , , 14	and nam		F 0
	) ( 14 and name HDI	) 5.0	( 15 and		) ( 14		e ngiz /	5.0
( 15 and name HN	) ( 14 and name HG2*	) 3.5	( 15 and	name HN	) ( 14	and nam	eHN)	2.7
( 15 and name HN	) ( 15 and name $HA$	) 35	( 15 and	name HN	) (15	and nam	e HR1 )	35
( 15 and name IN	) ( 15 and name IID)	, 5.5	( 15 and			and nam		5.5
(15 and name HN	) ( 15 and name HB2	) 2./	( 15 and	name HN	) ( 15	and nam	e HD^ )	5.0
( 15 and name HN	) ( 16 and name HB*	) 5.0	(15 and	name HN	) (16	and nam	eHN)	2.7
( 15 and name IN	(17  and name III)	) 5.0	( 15 and		) ( 10		- IID+ )	
(15 and name HN	) ( 17 and name HN	) 5.0	(15 and	name HN	) ( 18	ana nam	енD^)	5.0
( 15 and name HN	) ( 63 and name HD*	) 5.0	(15 and	name HN	) (63	and nam	eHE*)	5.0
(16 and name UN	(12  and name  H)	) 2 E	( 16 and	nomo UN	, , 15	and nam		2 5
( 10 and name HN	) ( 15 and name ha	) 3.5	( IO and	name AN	) ( 15	and nam	е па )	5.5
( 16 and name HN	) ( 15 and name HB1	) 2.7	( 16 and	name HN	) ( 15	and nam	eHB2)	5.0
(16 and name UN	) (15 and name UD*	1 2 5	( 16 and	namo UN	, <u>,</u> 16	and nom		2 5
		, 5.5	( IO and	manie mi				5.5
( 16 and name HN	) ( 16 and name HB*	) 2.7	( 16 and	name HN	) ( 16	and nam	eHD*)	5.0
( 16 and name HN	) ( 16 and name HG1	) 27	( 16 and	name HN	) ( 16	and nam	е HC2 )	5 0
		, 2.,	( 10 and			and nam		5.0
( 16 and name HN	) ( 17 and name HBI	) 5.0	( 16 and	name HN	) ( 18	ana nam	енD^)	5.0
( 17 and name HE	) ( 17 and name HA	) 5.0	(17 and	name HE	) (17	and nam	eHB1)	5.0
( 17 and name III	(17  and name III)	)	( 17 and		) ( <u>-</u> )	and nam		2.5
( 17 and name HE	) ( 17 and name HBZ	) 5.0	( 17 and	паше нь	) ( 1/	and nam	e HDI )	3.5
( 17 and name HE	) ( 17 and name HD2	) 3.5	(17 and	name HE	) ( 17	and nam	e HG1 )	3.5
(17 and name UF	(17  and name  UC2)	1 3 5	17 and	name UN	, i 13	and nam		5 0
		, 5.5						5.0
( 17 and name HN	) ( 14 and name HA	) 3.5	( ⊥7 and	name HN	) (14	and nam	е HG2* )	5.0
(17 and name HN	) (15 and name HA	5 0	(17 and	name HN	) ( 16	and nam		35
( 17 and mane m		,	, <u>_</u> , unu		, <u> </u>	and mull	/	2.5
( 17 and name HN	) ( 16 and name HB*	) 3.5	( 17 and	name HN	) ( 16	and nam	ehn)	3.5
( 17 and name HN	) ( 17 and name HA	) 3.5	( 17 and	name HN	) ( 17	and nam	eHB*)	2.7
(17 and name IN	(17  and  name 10)	) = 0	( 17 ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	namo UM	· · · - ·	and nor		2 -
		,		name niv	/ ( _/	and Hall	C 11GT /	5.5
( 17 and name HN	) ( 17 and name HG2	) 3.5	( 17 and	name HN	) ( 18	and nam	e HBl )	5.0
(17 and name HN	) (18 and name HD*	) 5 0	( 18 and	name HN	) ( 14	and nam	е на й	5 0
( 10 ]		, 5.0	( 10 and		, , <u>1</u> , , <u>-</u> -	and mall	· · · · · ·	5.0
( ⊥8 and name HN	) ( 14 and name HG2*	) 5.0	(18 and	name HN	) (15	and nam	ена )	3.5
( 18 and name HN	) ( 16 and name H∆	) 5.0	( 18 and	name HN	) ( 16	and nam	e HN	5 0
( 10 and name 111	) ( 17 and mar 177	, 2.0 , 2.0	( 10 7	nome INT	, , ±0 , , 1⊓	and main	- ···· /	2.0
( 18 and name HN	) ( I/ and name HA	1 3.5	(⊥8 and	name HN	) ( 17	and nam	енв* )	3.5
( 18 and name HN	) ( 17 and name HG1	) 5.0	( 18 and	name HN	) ( 17	and nam	e HG2 )	5.0
(19 and name IN	(17  and   name  IN)	\ <u>2</u> 7	1 10 00-7		(10)	and new	о ЦЛ )	2.5
, to and name HN		1 4.1	Lo and	name HN	) ( <u>1</u> 8	anu nam	епа )	2.5
( 18 and name HN	) ( 18 and name HB1	) 2.7	( 18 and	name HN	) ( 18	and nam	eHB2)	5.0
(18 and name HN	) ( 18 and name HD*	) 35	( 18 and	name HN	) ( ) 🤉	and nam	е HD1* і	50
( 10 and name III)		,	( 10 and	nome III	, ( 20 ) / <b>2</b> 4	and mall		5.0
( 18 and name HN	/ 26 and name HG2*	, 5.0	( is and	name HN	) (34	ana nam	е нв^ )	5.U
( 19 and name HN	) ( 15 and name HA	) 5.0	( 19 and	name HN	) (15	and nam	eHD*)	5.0
(19 and name UN	) (16 and name $\Pi$	) 2 5	(10 22	name UM	) i 1 c	and nom	с нм (	5 0
		, 5.5	( 12 and	11ame nn	, <u>ι</u> το	and Hall	C 1111 )	5.0
( 19 and name HN	) ( ⊥7 and name HA	) 5.0	( 19 and	name HN	) (17	and nam	ehn)	5.0
( 19 and name HN	) ( 18 and name H∆	) 3.5	( 19 and	name HN	) ( 1 🎗	and nam	e HB1	3 5
( 10 and some the	( 10 and man 1100	, J.J \ 7 F	( 10 7	nomo III	, <u>1</u> 0	and mail	/	5.5
( 19 and name HN	, Lo and name HB2	1 3.5	( 19 and	name HN	) ( <u>1</u> 8	ana nam	ени^)	5.0
( 19 and name HN	) ( 18 and name HN	) 2.7	( 19 and	name HN	) ( 19	and nam	eHA)	3.5
(19 and name UN	) (19 and name $UD^1$	) 27	( 10 and	name UM		and nom		2 5
		/ 4./	( 12 and	11ame nn	, , 19	and Hall		5.5
( 19 and name HN	) ( 20 and name HN	) 5.0	( 19 and	name HN	) (26	and nam	e HDl* )	3.5
(19 and name HN	) ( 26 and name HC12	) 5.0	( 19 and	name HN	) ( 26	and nam	e HG2* i	5 0
		, 5.5	, unu		, <u> </u>	and mull		2.0
( ∠∪ and name HN	) ( 18 and name HA	, 5.0	(∠∪ and	name HN	) ( 19	ana nam	ена )	2.1
( 20 and name HN	) ( 19 and name HB1	) 5.0	( 20 and	name HN	) ( 19	and nam	e HB2 )	5.0
( 20 and name the	) ( 20 and now 17	) 2 E	( 20			and		2.0
, ∠∪ and name HN	/ ZU and name HA	1 3.5	, ∠∪ and	name HN	, ( 20	ana nam	с пв^ )	4./
( 20 and name HN	) ( 26 and name HG12	) 5.0	( 20 and	name HN	) (26	and nam	e HG2* )	5.0
(20 and name IN	(30  and name  17)	) = 0	( 20	name UN	, <u> </u>	and nor	ο UP1 \	E 0
		, 5.0	, zu alla	manie HN	, , , , , ,	anu nalil		5.0
( 20 and name HN	) ( 30 and name HB2	) 5.0	( 20 and	name HN	) (30	and nam	e HGl )	5.0
(20 and name HN	) (30 and name HC?	) 3 5	( 21 and	name HD21	) ( 21	and nam	е на й	5 0
		, 5.5	( <u>)</u>		, <u> </u>			2.0
( 21 and name HD21	) ( 21 and name HBl	) 3.5	( 21 and	name HD21	) ( 21	and nam	е HB2 )	3.5
/ 01 1	) (21 and name UN	) 5 0	( 01	nome IID 21	\ / 22	and nom	- 1101 \	E O
(21 and name HD21		1 3.0	( ZI and		1 ( 2 7	anu nam	ены	5.0

1	21	and	namo	uр21 )	1 2	12.	and	namo	UD2 )	5	0 (	21	and	namo	uр22	) (	21	and	namo	UD1 '	35
>	01	and	manic			1.0 0		manic	TID2 )	5		01	and	manic	TID 22	$\langle \rangle$	01	ana	manic	TIDI	5.5
(	21	and i	name	HDZZ )	( 2	i L i	ana	name	HBZ )	5	.0 (	21	ana	name	HDZZ	) (	21	ana	name	HN ,	) 5.0
(	21	and 1	name	HD22 )	( 2	13 8	and	name	HA )	5	.0 (	21	and	name	HD22	) (	23	and	name	HB1	) 5.0
ì	21	and	name	HD22	i 2	2 :	and	name	HB2 )	2	5 (	21	and	name	HN	i i	19	and	name	ЧΔ	5 0
Ş	21	and	name	11022 )			and	manne	1102 )	5		21	and	manie	1111	( )	12	and	manne	IIA .	
(	21	and i	name	HN )	(2	10 a	and	name	HA )	5	.0 (	21	and	name	HN	) (	20	and	name	нв* ,	) 2.7
(	21	and 1	name	HN )	( 2	10 a	and	name	HN )	3	.5 (	21	and	name	HN	) (	21	and	name	HA	) 3.5
ì	21	and	namo	LINI )	ì	1	and	namo	UD1 )	5	i i i	21	and	name	UN	í ì	21	and	name	UD2	35
(	21	and	name	пи )		ы (	ana	Itallie	пы )	5	.0 (	21	anu	Italle	ПN	) (	21	anu	name	пьг	5.5
(	21	and 1	name	HN )	(2	12 8	and	name	HA* )	5	.0 (	21	and	name	HN	) (	22	and	name	HN ,	) 2.7
(	21	and i	name	HN )	( 3	10 a	and	name	HB1 )	5	.0 (	21	and	name	HN	) (	30	and	name	HG2	) 5.0
ì	22				( 1	0.			112 )	г Г		22	and.		TINT	$\langle \rangle$	10			1101	, 5.0
(	22	and	name	HN )	( 1	.9 8	ana	name	HA )	5	.0 (	22	and	name	HIN	) (	19	and	name	HBI	) 5.0
(	22	and 1	name	HN )	( 1	.9 a	and	name	HB2 )	5	.0 (	22	and	name	HN	) (	20	and	name	HA	) 5.0
í	22	and	name	HN )	12	0	and	name	HR*	5	0 (	22	and	name	HN	) (	20	and	name	HN	50
÷	22	and	manic			10 0		manic	11D )	2		22	and	manic	1110	$\langle \rangle$	20	ana	manic	IIIN I	5.0
(	22	and i	name	HN )	( 2	i L i	ana	name	HA )	- 3	.5 (	22	ana	name	HN	) (	21	ana	name	HBT '	) 5.0
(	22	and 1	name	HN )	( 2	11 a	and	name	HB2 )	5	.0 (	22	and	name	HN	) (	22	and	name	HA*	) 2.7
ì	22	and	namo	UN )	in	12 .	and	namo	י כם ד	5	o i	22	and	namo	UN	λ i	10	and	namo	<u>ил</u>	50
Ş	22	and	name	111N )			and	manne	1102 )	5		20	and	manie	1111	( )	12	and	manne	IIA IID 0 0	5.0
(	23	and i	name	HN )	(2	i L i	and	name	HBI )	5	.0 (	23	and	name	HN	) (	21	and	name	HD22	) 5.0
(	23	and i	name	HN )	( 2	1 8	and	name	HN )	5	.0 (	23	and	name	HN	) (	2.2	and	name	HA*	) 3.5
ì	22	and	n 0 m 0	LINT )	ì	5.	and	nomo	LINT )	2	5 (	22	and	nomo	LINT	í ì	22	and	nomo	U7	2 5
Ś	25	and	name	111N )		20	and	manne	111N )	5		25	anu	manie	1111	(	25	anu	manne		, 5.5
(	23	and 1	name	HN )	(2	3 3	and	name	HBL )	5	.0 (	23	and	name	HN	) (	23	and	name	HB2	) 3.5
(	23	and 1	name	HN )	( 2	4 8	and	name	HA2 )	5	.0 (	23	and	name	HN	) (	24	and	name	HN	) 2.7
ì	22	and	n		ì	5	and	nomo		2	Б (	24	and	namo	LINT	ί i	15	and	nomo	UF*	50
Ş	25	and	name	111N )			and	manne	111N )	2		27	and	manie	1111	( )	10	and	manne	1112	5.0
(	24	and 1	name	HN )	( 2	12 8	and	name	HA* )	3	.5 (	24	and	name	HN	) (	22	and	name	HN ,	) 5.0
(	24	and 1	name	HN )	( 2	3 8	and	name	HA )	3	.5 (	24	and	name	HN	) (	24	and	name	HA1	) 3.5
ì	24	and	namo	LINI )	ì	4	and	namo	UA2 )	2	7 (	25	and	name	UN	í ì	15	and	name	UF*	5 0
Ś	27	and	name	111N )			and	manne	IIAZ )		. / (	25	anu	manie	1111	(	10	anu	manne	1112	5.0
(	25	and 1	name	HN )	(1	.5 a	and	name	нх )	5	.0 (	25	and	name	HN	) (	т9	and	name	нвт )	5.0
(	25	and 1	name	HN )	(2	1 8	and	name	HD22	5	.0 (	25	and	name	HN	) (	23	and	name	HA	) 5.0
ì	25	and	namo	HN V	i	12.	and	namo	цр1 /	- F	n ì	25	and	namo	HN	ì	22	and	namo	ир?	
ļ	20	anu	nanie	· · · · ·	2	ہ د. م	- Dure	name	, TOTI	2		20	and -	manne	1111	( )	40	anu	name	202	, 5.0
(	25	and 1	name	HN )	(2	4 8	and	name	HAL )	3	.5 (	25	and	name	HN	) (	24	and	name	HA2	) 3.5
(	25	and 1	name	HN )	(2)	4 8	and	name	HN )	2	.7 (	25	and	name	HN	) (	25	and	name	HA	) 3.5
ì	25	and	n 0 m 0	LINT )	ì		and	namo	UD* )	2	5 (	25	and	namo	LINT	í í	25	and	namo	1 1	50
ļ	20	ang I	naille	TTTN )	2	5 6	, puic	nallie	11D )	3		20	and	maille	1111	( )	40	and	maille	11D1	2.0
(	25	and 1	name	HN )	(2	15 a	and	name	HEL )	5	.0 (	25	and	name	HN	) (	25	and	name	HGI ,	) 3.5
(	25	and i	name	HN )	( 2	5 2	and	name	HG2 )	3	5 (	25	and	name	HN	) (	26	and	name	HA	) 5.0
ì	25	and	n 0 m 0	LINT )	ì	6	and	nomo	UC11 )	5		25	and	nomo	LINT	í ì	26	and	nomo	UC12	50
(	25	and	name	пи )		.0 0	ana	Itallie	HGII )	5	.0 (	20	anu	Italle	ПN	) (	20	anu	name	ngiz .	5.0
(	25	and 1	name	HN )	(6	23	and	name	HA )	5	.0 (	26	and	name	HN	) (	15	and	name	HE*	) 5.0
(	26	and i	name	HN )	( 1	5 a	and	name	HZ )	3	.5 (	26	and	name	HN	) (	25	and	name	HA	) 2.7
ì	26	and	nomo	TINT )	ì		and	nomo	11D* )	2	- E (	26	and	nomo	TINT	$\langle \rangle$	25	and	nomo	110.0	
(	20	and	name	HIN )		5	ana	name	пв. )	5	.5 (	20	ana	name	HIN	) (	25	ana	Itallie	пра	5.0
(	26	and 1	name	HN )	(2	25 a	and	name	HG2 )	5	.0 (	26	and	name	HN	) (	25	and	name	HN	) 5.0
(	26	and i	name	HN )	( 2	6 :	and	name	HA )	3	5 (	26	and	name	HN	) (	26	and	name	HR	) 35
ì	20				2				TTD1+ )	Г		20	and.		TINT	$\langle \rangle$	20			11011	,
(	20	and	name	HN )		0	ana	name	HDI^ )	5		20	and	name	HIN	) (	20	and	name	HGII	2.1
(	26	and 1	name	HN )	(2	16 a	and	name	HG12 )	- 3	.5 (	26	and	name	HN	) (	26	and	name	HG2*	) 5.0
(	26	and i	name	HN )	( 2	7 :	and	name	HN )	5	0 (	26	and	name	HN	) (	60	and	name	HB1	) 50
ì	20	and	nomo	TINT )	ìć		and	nomo		5		20	and	nomo	TINT	$\langle \rangle$	60	and	nomo	IID*	, 5.0
(	20	and	name	HIN )	( 0	0 8	ana	name	нва )	5	.0 (	20	and	name	HIN	) (	60	and	name	HD*	) 5.0
(	26	and 1	name	HN )	(6	1 a	and	name	HB )	- 3	.5 (	26	and	name	HN	) (	61	and	name	HD1*	) 5.0
(	26	and i	name	HN )	(6	1 8	and	name	HG2* )	5	.0 (	26	and	name	HN	) (	61	and	name	HN	) 3.5
ì	26	and	n o m o	TINT )	ìc		and	nomo	TTA )	5		27	and	nomo	TINT	í í	10	and	nomo	117	
ç	20	and	name	HIN )	( 0	2 0	anq	Itallie	IA )	5		27	anu	Italle	HIN	/ /	19	anu	name	пА	5.0
(	27	and 1	name	HN )	( 2	16 a	and	name	HA )	- 2	. 7 (	27	and	name	HN	) (	26	and	name	нв ,	) 5.0
(	27	and i	name	HN )	( 2	6 a	and	name	HD1* )	5	.0 (	27	and	name	HN	) (	26	and	name	HG12	) 5.0
ì	27	and	namo	LINI )	ì	6	and	namo	UC2* )	2	5 (	27	and	name	UN	í ì	27	and	name	<u>ил</u>	35
Ś	27	and	name	111N )		.0 0	and	manne	1162 )	5		27	anu	manie	1111	(	27	anu	manne		, 5.5
(	27	and 1	name	HN )	( 2	17 8	and	name	HBL )	5	.0 (	27	and	name	HN	) (	27	and	name	HB2	) 3.5
(	27	and i	name	HN )	( 2	27 a	and	name	HG )	5	.0 (	27	and	name	HN	) (	28	and	name	HN	) 5.0
ì	27	and	n 0 m 0	LINT )	ì	0	and	nomo	UD* )	5	0 (	27	and	namo	LINT	í í	20	and	namo	UN	50
(	27	and	name	пи )			ana	Itallie	пв )	5	.0 (	27	anu	Italle	ПN	) (	29	anu	name	піх	5.0
(	27	and 1	name	HN )	(3	10 a	and	name	HA )	5	.0 (	27	and	name	HN	) (	30	and	name	HB1	) 3.5
(	27	and 1	name	HN )	(3	10 a	and	name	HB2 )	3	.5 (	27	and	name	HN	) (	30	and	name	HG1	) 5.0
ì	27	and	nomo		is	0	and	nomo	uco )	5	0	27	and	namo	LINT	ί i	20	and	nomo	UN	2 5
Ş	27	anu	name		( )	10 0	and	name	HGZ )	5		27	anu	Italle	FIIN	(	50	anu	name	IIN I	5.5
(	27	and i	name	HN )	( 3	iΤά	ana	name	HN )	5	.0 (	27	ana	name	HN	) (	60	ana	name	HD^	) 5.0
(	27	and 1	name	HN )	(6	i0 a	and	name	HE* )	5	.0 (	27	and	name	HN	) (	61	and	name	HN	) 5.0
ì	28	and	name	HN )	12	7 :	and	name	на і	2	, 7 i	28	and	name	HN	ί i	27	and	name	HB1 3	27
ì	20	and i	manne	1110 /			annoa	manic	TTDO )	-		20	ana	manic	1111	$\langle \rangle$	07	and	manne	IIDI	
(	28	and i	name	HN )	( 2	1/ 8	ana	name	HBZ )	5	.0 (	28	and	name	HN	) (	27	ana	name	HG	) 5.0
(	28	and 1	name	HN )	(2	18 a	and	name	HA )	3	.5 (	28	and	name	HN	) (	28	and	name	HB*	) 2.7
í	28	and a	name	HN )	( )	9 ;	and	name	HN N	2	.5 (	2.8	and	name	HN	) (	30	and	name	HN	) 5.0
ì	20	and	nomo	TINT )	1 2	1	and	nomo	TINT )	Ē		20	and	nomo	TINT	$\langle \rangle$	16	and	nomo	110.2*	
ļ	20	anu	nanie	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	, 3	іт (	, und	manie	111N )	5		20	ana	maille	1111	(	10	ana	manie	1192	
(	28	and 1	name	HN )	(5	0 a	and	name	HE* )	3	.5 (	28	and	name	HN	) (	50	and	name	HG1	) 5.0
(	28	and 1	name	HN )	(6	0 ;	and	name	HA )	5	.0 (	28	and	name	HN	) (	60	and	name	HD*	) 5.0
ì	28	and	name	HN V	iñ		and	name	HE* )	5	in ì	29	and	name	HN	ìì	27	and	name	HB1	2 5
)	20	and I	indille	/			200	manne				22	and .	manne	TINT	$\langle \rangle$	<u> </u>	7	manne	1101	, 5.5
(	29	and 1	name	ни )	(2	:/ 8	and	name	нв2 )	5	(	29	and	name	HN	) (	21	and	name	НĠ	, 5.0
(	29	and 1	name	HN )	(2	8 8	and	name	HA )	3	.5 (	29	and	name	HN	) (	28	and	name	HB*	) 2.7
i	29	and '	name	HN V	( )	9	hne	name	НА Й	2	.5 <i>i</i>	29	and	name	HN	) (	29	and	name	HR*	) 27
>	20	00-1	Dores					nomi		2		20	and	nome	TINT	$\langle \rangle$	10	02.7	nome	110.0+	, <u>2</u> ./
(	29	ana i	name	ним )	( 3	U a	ana	name	HIN )	3	.5 (	29	and	name	TIN	) (	40	and	name	пGZ^	5.0
(	30	and 1	name	HN )	(2	6 8	and	name	HA )	5	.0 (	30	and	name	HN	) (	26	and	name	HG2*	) 5.0
ì	30	and	name	HN Ú	( )	7	hne	name	НА Й	5	$\mathbf{i}$	30	and	name	HN	ìì	27	and	name	HB1	5 0
>	20			/		., (		manie	11100			20		manne	TINT	$\langle \rangle$	<u>,</u>		manic		,
0	30	and 1	name	ни )	(2	/ 8	and	name	нвг )	5	(	30	and	name	HIN	) (	21	and	name	пG	1 3.5
(	30	and 1	name	HN )	(2	8 8	and	name	HA )	5	.0 (	30	and	name	HN	) (	29	and	name	HA	) 3.5
i	30	and v	name	HN V	( )	9	and	name	HB*	2	.7 ì	30	and	name	HN	) (	30	and	name	НА	) 35
>	20	2201	nom-	UNI V		0	222	nome	ир1 (		, ,	20	222	nor	LINT	$\langle \rangle$	20	222	nome	UD O	, ,,,
(	30	and i	naiie	чти )	( 3	i U á	ana	naiile	пыт )	5	(	30	ana	name	LIN	) (	30	ana	naule	пви	, 2.1
(	30	and 1	name	HN )	(3	10 a	and	name	HG1 )	2	.7 (	30	and	name	HN	) (	30	and	name	HG2	) 3.5
í	30	and a	name	HN )	( २	1 :	and	name	HB1 N	5	.o i	31	and	name	HN	) (	26	and	name	НА	) 5.0
2	21	and	name	/	ì	6	and	nomo	UD1* \		, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	21	and	nome	LINT		26	and	nomo	UC2*	, J.U , J.U
(	⊥د		naille	LTTN )	( 4	0 8	ana	naille	чрт., )	5	(	10	and	nalle	LIIN	1	20	and	nallie	пG2 °	1 3.5
(	31	and 1	name	HN )	(2	8 8	and	name	HA )	3	.5 (	31	and	name	HN	) (	28	and	name	HB*	) 5.0
(	31	and a	name	HN )	( 2	9 :	and	name	HA Ì	5	.o i	31	and	name	HN	) (	29	and	name	HB*	) 5.0
ì	21	and -	n 2 m 2	UN \	ì	0 .	and	nomo	UNT )		0	21	and	nome	LINT	í í	20	and	nomo	<u>цу</u>	) 2.0
ļ	<u></u> 5⊥	and i	nalle	лим )	<u>, 4</u>	3 6	ana	nane	LTIN )	5	(	51	ana	name		) (	30	ana	nane	пА	1 3.5
(	31	and 1	name	HN )	(3	iU a	and	name	нві )	5	.0 (	31	and	name	HN	) (	30	and	name	HB2	) 3.5
(	31	and 1	name	HN )	( 3	0 ;	and	name	HG1	5	.0 (	31	and	name	HN	) (	30	and	name	HG2	) 5.0
ì	21	and	namo	HN V	ìs	0	and	name	HN Y	2	5 /	21	and	name	HN	í ì	21	and	name	нд	2.0
>	21	and I		111N /	, , ,	1 0	Junu -	manie	11D1 )	 		21	and a	maille	TINT	/ \	21	and l	manie	1100	,
(	31	and 1	name	HN )	(3	i⊥i	and	name	HRT )	2	. / (	31	and	name	HN	) (	31	and	name	нв2	2.7
(	31	and 1	name	HN )	(3	1 8	and	name	HD1* )	5	.0 (	31	and	name	HN	) (	31	and	name	HD2*	) 5.0
ì	21	and	namo	HN V	is	1	and	namo	HC V	2	in ì	21	and	name	HN	ji	20	and	namo	нд1	5 0
Ş	21	anu	maille	111N )	, , ,	<u>,                                    </u>	2010	maille	110 )	2		21	and	manne	TIT	( )	24	and	maille	TTCC + 1	, 5.0
(	31	and 1	name	HN )	(3	5 6	and	name	HN )	5	.0 (	31	and	name	HN	) (	46	and	name	HG2*	, 5.0
(	31	and 1	name	HN )	( 5	i0 a	and	name	HE* )	5	.0 (	32	and	name	HN	) (	28	and	name	HA	) 5.0
ì	20	and	namo	HN V	i	ig .	and	namo	на у	2	in ì	20	and	name	HN	ji	20	and	namo	HR*	) 5 0
>	22	0	nom	TINT )			200	name	1173 )	5		24	0	name	TINT	$\langle \rangle$	20	0	name		, 5.0
(	32	and 1	name	HN )	(3	U a	and	name	HA )	5	(	32	and	name	HIN	) (	30	and	name	HBZ	1 5.0

( 32 and name HN	) ( 30 and name HN	5.0 (32 and name HN	(31  and name HA)	5 0
				5.0
( 32 and name HN	) ( 31 and name HBI	) 2.7 (32 and name HN	) ( 31 and name HB2 )	5.0
( 32 and name HN	) ( 31 and name HD1*	) 5.0 (32 and name HN	) ( 31 and name HD2* )	5.0
( 20 and name UN	) (21 and name IIC	$E_0$ (22 and name IN	(21  and name IIN)	2 5
( 32 and name HN	) ( 31 and name HG	) 5.0 (32 and hame HN	) (31 and name HN )	3.5
( 32 and name HN	) ( 32 and name HA1	) 2.7 (32 and name HN	) ( 32 and name HA2 )	3.5
( 32 and name UN	) (33 and name UP?	50 (32 and name UN	) (33 and name HN)	25
				5.5
( 32 and name HN	) ( 34 and name HB*	) 5.0 (32 and name HN	) (34 and name HN )	5.0
( 32 and name HN	) ( 35 and name HN	5.0 (32 and name HN	) ( $46$ and name HG1* )	5 0
				5.0
( 32 and name HN	) ( 46 and name HG2*	) 3.5 (33 and name HN	) (29 and name HA )	5.0
( 22 and name UN	) ( 29 and name $\Pi P^*$	50 (33 and name $HN$	$(30 \text{ and name } \square)$	3 5
				5.5
( 33 and name HN	) ( 31 and name HA	) 5.0 (33 and name HN	) (32 and name HAL )	3.5
( 33 and name HN	) ( 32 and name HA2	) 3.5 (33 and name HN	(33  and name HA)	35
				3.5
( 33 and name HN	) ( 33 and name HBI	) 3.5 (33 and name HN	) (33 and name HB2 )	2.7
( 33 and name HN	) ( 33 and name HG1	) 5.0 (33 and name HN	) (33 and name HG2 )	3.5
				F 0
( 33 and name HN	) ( 34 and name HB*	) 5.0 (33 and name HN	) (35 and name HN )	5.0
( 33 and name HN	) ( 36 and name HN	) 5.0 (33 and name HN	) ( 46 and name HG2* )	5.0
( 24 and name IIN	) ( 10 and name UD*	E 0 (24 and name UN	(21  and name II)	2 5
			) ( SI allu lialle HA )	5.5
( 34 and name HN	) ( 31 and name HD2*	) 5.0 (34 and name HN	) ( 32 and name HA1 )	5.0
( 34 and name UN	) (32 and name $HN2$	5.0 (34 and name $HN$	) (33 and name HA)	25
				5.5
( 34 and name HN	) ( 33 and name HBI	) 3.5 (34 and name HN	) (33 and name HB2 )	5.0
( 34 and name HN	) ( 33 and name HG1	) 5.0 (34 and name HN	) (33 and name HG2 )	5.0
( 24 and name III	) ( 22 and name IN	$2 \Gamma$ (24 and name III)	) ( 24 and name II) )	2.5
( 34 and name HN	) (33 and name HN	) 3.5 (34 and name HN	) (34 and name HA)	3.5
( 34 and name HN	) ( 34 and name HB*	) 2.7 (34 and name HN	) ( 35 and name HB1 )	5.0
(21 and name UN	) ( 25 and name HN	2 = (24  and name UN)	(26 and name UN)	E 0
			) ( 30 and name fin )	5.0
( 35 and name HN	) ( 18 and name HD*	) 5.0 (35 and name HN	) (31 and name HA )	5.0
(35  and name HN)	) ( 31 and name HD2*	) 5.0 (35 and name HN	) (32 and name HA1 )	5 0
	) ( 20 and 100 HD2	$\sim$	) ( 22 and round 1171 )	5.0
( 35 and name HN	) ( 32 and name HA2	) 5.0 (35 and name HN	) (33 and name HA)	5.0
( 35 and name HN	) ( 33 and name HB2	) 5.0 (35 and name HN	) (34 and name HA )	3.5
(35 and name UN	) (34 and name $UP*$	35 (35 and name UN	) (35 and name UA)	3 5
	/ ( St and Hame nB*		/ ( 35 and name HA )	5.5
( 35 and name HN	) ( 35 and name HB1	) 2.7 (35 and name HN	) ( 35 and name HB2 )	3.5
( 35 and name HN	) ( 35 and name HD1*	) 5.0 (35 and name $HN$	) ( 35 and name $\mu D^{2*}$	5 0
		2 = (2 = -3)		5.0
( 35 and name HN	) ( 35 and name HG	) 3.5 (35 and name HN	) ( 36 and name HB2 )	5.0
( 35 and name HN	) ( 37 and name HN	) 5.0 (35 and name HN	) (46 and name HG1*)	5.0
( 26 and name UN	) ( 2) and name UNO	E 0 (26 and name IIN	(22  and name II)	2 5
( So and name HN	) ( 32 and name HAZ	) 5.0 ( 56 and name HN	) ( 35 and name HA )	5.5
( 36 and name HN	) ( 34 and name HA	) 5.0 (36 and name HN	) ( 34 and name HB* )	5.0
(36 and name UN	) (35 and name $\Psi$ )	35 (36 and name UN	(35  and name  UP1)	25
				5.5
( 36 and name HN	) ( 35 and name HB2	) 5.0 (36 and name HN	) ( 35 and name HDI* )	5.0
( 36 and name HN	) ( 35 and name HD2*	) 5.0 (36 and name HN	) (35 and name HG )	5.0
( 26 and name UN	) (25 and name UN	2 E (26 and name UN	(26  and  name  H)	2 5
				5.5
( 36 and name HN	) ( 36 and name HBI	) 3.5 (36 and name HN	) (36 and name HB2 )	2.7
( 36 and name HN	) ( 36 and name HD*	) 5.0 (36 and name HN	) (36 and name HE* )	5.0
( 26 and name HN	) ( $26$ and name $UC*$	2 E (26 and name UN	(27  and name HP)	5 0
				5.0
( 36 and name HN	) ( 37 and name HG2*	) 5.0 (36 and name HN	) (37 and name HN )	3.5
( 36 and name HN	) ( 41 and name HG2*	) 5.0 (37 and name HN	) (34 and name HA)	5.0
( 27 and name UN	) ( 2E and name IIA	$E_0$ (27 and name III	(2E and name IID2)	E 0
				5.0
( 37 and name HN	) ( 36 and name HA	) 3.5 (37 and name HN	) ( 36 and name HBL )	3.5
( 37 and name HN	) ( 36 and name HB2	) 3.5 (37 and name HN	) (36 and name HG* )	5 0
( 27 and name IN	) ( 27 and name II)	$2 \Gamma$ (27 and name III)	) ( 27 and name IID )	2.0
( 37 and name HN	) ( 37 and name ha	) 3.5 ( 37 and name fin		2.1
( 37 and name HN	) ( 37 and name HG2*	) 3.5 ( 37 and name HN	) ( 38 and name HB1 )	5.0
( 37 and name HN	) ( 38 and name HG	5.0 (37 and name HN	) (39 and name HN)	5 0
				5.0
( 37 and name HN	) ( 41 and name HG2*	) 5.0 (38 and name HN	) (35 and name HA )	5.0
( 38 and name HN	) ( 35 and name HB2	) 5.0 (38 and name HN	) (36 and name HA )	5.0
(29 and name UN	) (26 and name HN	E 0 (29 and name UN	(27  and  name  H)	2 5
			) ( 37 allu lialle HA )	5.5
( 38 and name HN	) ( 37 and name HB	) 5.0 (38 and name HN	) ( 37 and name HG2* )	5.0
(38 and name HN	) ( 37 and name HN	) 27 (38 and name HN	) (38 and name HA)	35
				5.5
( 38 and name HN	) ( 38 and name HBI	) 2.7 (38 and name HN	) ( 38 and name HB2 )	5.0
( 38 and name HN	) ( 38 and name HD1*	) 5.0 (38 and name HN	) ( 38 and name HD2* )	5.0
( 20 and name IIN	) ( 20 and name UC	E 0 (29 and name UN	(20  and name II)	E O
, so and name HN	/ So and name HG		( 10 III IIIIII HAL )	5.0
( 38 and name HN	) ( 39 and name HN	) 2.7 (38 and name HN	) ( 40 and name HN )	5.0
( 39 and name HN	) ( 36 and name HA	) 3.5 (39 and name HN	) (36 and name HG* )	5 0
( 20 and name IN	(27) and some $117$	$E_0$ (20 and name INT	(27  and name trace )	5.0
( 39 and name HN	/ ( S/ and hame HA	J 5.0 ( 59 and name HN	( S/ and name HGZ* )	5.0
( 39 and name HN	) ( 38 and name HA	) 3.5 (39 and name HN	) ( 38 and name HB1 )	3.5
(39 and name UN	) (38 and name UP)	5.0 (30 and name $III$	) (38 and name UD1*)	5 0
				2.0
( 39 and name HN	) ( 38 and name HD2*	) 5.0 ( 39 and name HN	) ( 38 and name HG )	5.0
( 39 and name HN	) ( 39 and name HA1	) 2.7 (39 and name HN	) (39 and name HA2 )	3.5
( 20 and name IN	$(11)$ and some $UCO^+$	= 0  ( 10 and name IN	(20  and   name III)	5.5
( SS and name HN	/ ( +1 and name HG2*	, 5.0 (40 and name HN	, ( so and name HBZ )	5.0
( 40 and name HN	) ( 39 and name HA1	) 3.5 ( 40 and name HN	) ( 39 and name HA2 )	3.5
(40 and name HN	) (39 and name HN	) 3.5 (40 and name HN	) (40 and name HA)	2 5
			(10  and  10  mm)	5.5
( 40 and name HN	) ( 40 and name HB*	) 2.7 (40 and name HN	) ( 41 and name HDl* )	5.0
( 41 and name HN	) ( 39 and name HA1	) 5.0 ( $41$ and name HN	) (39 and name HN)	5.0
( 11 and name INT	) ( 10 and north 117	27 (11 and 1000 110	(10  and name III)	E 0
, 41 and name HN	, to and name HA	2.7 (41 and name HN	/ ( 40 and name HBL )	5.0
( 41 and name HN	) ( 40 and name HB2	) 5.0 (41 and name HN	) ( 40 and name HN )	5.0
( 41 and name HN	) ( 41 and name HA	) $3.5$ ( $41$ and name HN	) (41 and name HR )	35
( 11 and some Th	(11  and  110 m  m 111)	(11  and name int)	(11  and   ranke IID)	5.5
( 41 and name HN	/ ( 41 and name HD1*	, 5.0 (41 and name HN	) ( 41 and name HGII )	5.0
( 41 and name HN	) ( 41 and name HG12	) 5.0 (41 and name HN	) ( 41 and name HG2* )	3.5
(41 and name UN	) (42 and name UN	) 5.0 (42 and name $\mathbf{U}\mathbf{N}$	) (41 and name UA)	27
				4./
( 4∠ and name HN	) ( 4⊥ and name HB	) 5.0 (42 and name HN	) ( 41 and name HD1* )	5.0
( 42 and name HN	) ( 41 and name HG11	) 3.5 ( 42 and name HN	) ( 41 and name HG2* )	3.5
(42 and name UN	) (42 and name $\square$	$35$ (42 and name $\square$	) (42 and name $UD$ )	5.0
				5.0
( 42 and name HN	) ( 42 and name HG2*	) 2.7 (42 and name HN	) ( 43 and name HD* )	5.0
( 42 and name HN	) ( 44 and name HN	) 5.0 (42 and name HN	) (45 and name HB1 )	3.5
( 12 and some INT	) ( AE and name IID)	$E_0$ (12 and name intervention)	) ( AE and name tigt )	2.J 2 F
1 HZ ANU NAME HN	/ 45 and name HB2	, 5.0 ( 42 and name HN	( 45 and name HG <sup>*</sup> )	2.5
( 42 and name HN	) ( 46 and name HG1*	) 5.0 (44 and name HN	) (42 and name HA )	5.0
( 44 and name HN	) ( 42 and name HR	) 3.5 (44 and name $HN$	) (42 and name $HG2*$ )	5 0
		)  2  E  (  14  and  11a  and  1	(12  and  1000  mm)	5.0
( 44 and name HN	/ (43 and name HA	, 5.5 (44 and name HN	(43 and name HBL )	5.0
( 44 and name HN	) ( 43 and name HB2	) 3.5 (44 and name HN	) ( 43 and name HD* )	3.5
(44 and name UN	) (43 and name $UC1$	) 5.0 (44 and name $\mathbf{U}\mathbf{N}$	) (44 and name $\Box \Lambda$ )	2 5
			( IT AND NAME TA )	3.5
( 44 and name HN	) ( 44 and name HB*	) 2.7 (44 and name $HN$	) (45 and name HG* )	5.0
( 45 and name HN	) ( 41 and name HD1*	) 5.0 ( 45 and name HN	) ( 41 and name HG2* )	5.0
			) ( 10 and name IID )	Г О
( 45 and name UN	) (4) and name $\Box$			

(	45	and	name	HN	)	(	42	and	name	HG2*	)	5.0	(	45	and	name	HN	)	(	42	and	name	HN	) 5.0
ì	45	and	name	HN	Ś	ì	43	and	name	нп*	ś	5 0	ì	45	and	name	HN	Ś	ì	44	and	name	ЧΔ	1 3 5
ì	15	and	nomo	LINT	Ś	ì	11	and	nomo	UD*	ś	2 5	ì	15	and	nomo	LINT	Ś	ì	л л	and	nomo	LINT	) 2 5
Ç	40	anu	Itallie	TIN	,	Ç	44	anu	Itallie	пв	(	3.5	(	40	anu	Itallie				11	anu	Itallie	HIN THE 1	) 3.5
(	45	and	name	ΗN	)	(	45	and	name	HA	)	3.5	(	45	and	name	HN	)	(	45	and	name	HBT	) 2.7
(	45	and	name	HN	)	(	45	and	name	HB2	)	5.0	(	45	and	name	HN	)	(	45	and	name	HG*	) 2.7
(	45	and	name	HN	)	(	46	and	name	HA	)	5.0	(	45	and	name	HN	)	(	46	and	name	HB	) 5.0
Ì	45	and	name	HN	j	i	46	and	name	HG1*	)	5.0	i	45	and	name	HN	ý	(	46	and	name	HN	) 2.7
ì	15	and	nomo	LINT	Ś	ì	17	and	nomo	UN	ś	5.0	ì	15	and	nomo	LINT	Ś	ì	10	and	nomo	LINT	) 5 0
;	10	and	manie	TIN		÷	11	and	manie		{	5.0	(	10	and	manie	TINT		;	10	and	manie	11011	) 5.0
(	46	and	name	HN	)	(	41	and	name	HDI ^	)	5.0	(	46	and	name	HN	)	(	4 L	ana	name	HGII	) 5.0
(	46	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	41	and	name	HG2*	)	5.0	(	46	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	42	and	name	HG2*	) 5.0
(	46	and	name	HN	)	(	43	and	name	HA	)	3.5	(	46	and	name	HN	)	(	44	and	name	HA	) 5.0
i	46	and	name	HN	j	i	44	and	name	HR*	ý	5 0	i	46	and	name	HN	ý	i.	44	and	name	HN	5 0
ì	10	and	nomo	TINT		ì	1 1	and	nomo		{	2.0	ì	10	and	nomo	TINT		2	1 1	and	nomo	1101	) 3.0
Ś	40	anu	Itallie	TIN	,	Ç	40	anu	Itallie	пA	(	5.5	(	40	anu	Itallie				10	anu	Itallie	пы	) 5.5
(	46	and	name	ΗN	)	(	45	and	name	HB2	)	5.0	(	46	and	name	HN	)	(	45	and	name	HG*	) 5.0
(	46	and	name	HN	)	(	46	and	name	HA	)	3.5	(	46	and	name	HN	)	(	46	and	name	HB	) 2.7
(	46	and	name	HN	)	(	46	and	name	HG1*	)	2.7	(	46	and	name	HN	)	(	46	and	name	HG2*	) 5.0
i	46	and	name	HN	j	i	47	and	name	HR*	ý	5 0	i	46	and	name	HN	ý	i.	47	and	name	HN	) 27
ì	16	and	nomo	LINT	Ś	ì	10	and	nomo	UN	ś	5.0	ì	16	and	nomo	LINT	Ś	ì	10	and	nomo	111.	) 5 0
	10	and	manie	TIN			10	anu	manie	TIN	{	5.0		10	anu	manie	TIN		;		and	manie	1112	) 3.0
(	46	and	name	HN	)	(	49	and	name	HN	)	5.0	(	4/	and	name	HN	)	( '	44	ana	name	HA	) 3.5
(	47	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	44	and	name	HN	)	5.0	(	47	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	45	and	name	HB1	) 5.0
(	47	and	name	HN	)	(	46	and	name	HA	)	3.5	(	47	and	name	HN	)	(	46	and	name	HB	) 2.7
Ì	47	and	name	HN	j	i	46	and	name	HG1*	)	5.0	i	47	and	name	HN	ý	(	46	and	name	HG2*	) 3.5
ì	47	and	namo	LIN	ś	ì	47	and	namo	шл	ś	3 5	ì	47	and	namo	UN	Ś	ì	47	and	namo	UD*	) 27
;	47	and	manie	TINT		÷	47	and	manie		{	5.5	(	47	and	manie	TINT		;	1 / 1 / -	and	manie	11110	) 2.7
(	4/	and	name	HIN	)	(	4/	and	name	HD^	)	5.0	(	4/	and	name	HIN	)	(	4/	and	name	HE ~	) 5.0
(	47	and	name	ΗN	)	(	47	and	name	HGI	)	5.0	(	47	and	name	HN	)	(	47	and	name	HG2	) 5.0
(	47	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	48	and	name	HB*	)	5.0	(	47	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	48	and	name	HN	) 2.7
(	48	and	name	HN	)	(	44	and	name	HA	)	5.0	(	48	and	name	HN	)	(	44	and	name	HB*	) 5.0
ì	48	and	name	HN	ý	ì	45	and	name	НΔ	ś	3 5	ì	48	and	name	HN	Ś	ì.	46	and	name	НΔ	) 50
ì	10	and	nomo	TINT		ì	10	and	nomo	1100*	{	5.5	ì	10	and	nomo	TINT		2	10	and	nomo	117	) 3.0
Ś	40	anu	Itallie	TIN	,	Ç	40	anu	Itallie	ngz "	(	5.0	(	40	anu	Itallie				1/	anu	Itallie	ПA	) 5.5
(	48	and	name	ΗN	)	(	47	and	name	нв*	)	2.7	(	48	and	name	HN	)	(	47	and	name	HD*	) 5.0
(	48	and	name	HN	)	(	47	and	name	HG1	)	5.0	(	48	and	name	HN	)	(	48	and	name	HA	) 3.5
(	48	and	name	HN	)	(	48	and	name	HB*	)	2.7	(	48	and	name	HN	)	(	48	and	name	HD2	) 5.0
ì	48	and	name	HN	ý	ì	51	and	name	HR*	ý	5 0	ì	49	and	name	HN	ý	ì	31	and	name	HD1*	5 0
ì	10	and	nomo	TINT		ì	1 5	and	nomo	112	~	E 0	ì	10	and	nomo	TINT		ì	16	and	nomo	112 1	) 3.0
Ś	49	ana	name	HIN	,	Ç	45	ana	name	HA	(	5.0	(	49	ana	Itallie	HIN	(	(	40	and	name	HA	) 5.5
(	49	and	name	ΗN	)	(	46	and	name	HGI*	)	5.0	(	49	and	name	HN	)	(	46	and	name	HG2*	) 5.0
(	49	and	name	HN	)	(	47	and	name	HA	)	5.0	(	49	and	name	HN	)	(	47	and	name	HN	) 5.0
(	49	and	name	HN	)	(	48	and	name	HA	)	5.0	(	49	and	name	HN	)	(	48	and	name	HB*	) 2.7
i	49	and	name	HN	j	i	48	and	name	HN	ý	27	i	49	and	name	HN	ý	i.	49	and	name	НΔ	) 35
ì	10	and	nomo	LINT		ì	10	and	nomo	UD1	í.	2.7	ì	10	and	nomo	LINT	Ś	ì	10	and	nomo	UD 2	) 2 5
	49	and	manne	TIN			49	and	manne		{	2.7	(	40	and	manne	TIN		;	10	and	manne		) 3.5
(	49	and	name	HN	)	(	49	and	name	HE ^	)	5.0	(	49	and	name	HN	)	(	49	ana	name	HGI	) 3.5
(	49	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	49	and	name	HG2	)	3.5	(	49	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	50	and	name	HB2	) 5.0
(	49	and	name	HN	)	(	50	and	name	HN	)	2.7	(	49	and	name	HN	)	(	51	and	name	HB*	) 5.0
ì	49	and	name	HN	ý	i	51	and	name	HN	ý	5.0	i	49	and	name	HN	ý	i	52	and	name	HN	) 5.0
ì	50	and	namo	LINI	ś	ì	21	and	namo	шп1 *	ś	3 5	ì	50	and	namo	LIN	ś	ì	46	and	namo	UN	) 5 0
	50	and	manie	TIN			10	and	manie	TTCO+	{	5.5		50	and	manie	TIN		;		and	manie	1175	) 3.0
(	50	and	name	HIN	)	(	40	and	name	HGZ~	)	5.0	(	50	and	name	HIN	)	(	4/	and	name	HA	) 3.5
(	50	and	name	HN	)	(	47	and	name	HN	)	5.0	(	50	and	name	HN	)	(	48	and	name	HA	) 5.0
(	50	and	name	HN	)	(	48	and	name	HB*	)	5.0	(	50	and	name	HN	)	(	48	and	name	HN	) 5.0
(	50	and	name	HN	)	(	49	and	name	HA	)	3.5	(	50	and	name	HN	)	(	49	and	name	HB1	) 2.7
ì	50	and	name	HN	ń	ì	49	and	name	HB2	Ń	3 5	ì	50	and	name	HN	Ś	ì.	49	and	name	HG1	ý 5 O
ì	50	and	nomo	LINT		ì	10	and	nomo	1102	1	5.5	ì	50	and	nomo	LINT		ì	50	and	nomo	110 I	) 2 5
(	50	ana	name	HIN	,	Ç	49	ana	name	HGZ	(	5.0	(	50	ana	name	HIN	(	(	50	ana	name	ПА	) 3.5
(	50	and	name	ΗN	)	(	50	and	name	HBT	)	3.5	(	50	and	name	HN	)	(	50	and	name	HB2	) 2.7
(	50	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	50	and	name	HE *	)	5.0	(	50	and	name	$_{\rm HN}$	)	(	50	and	name	HG1	) 3.5
(	50	and	name	HN	)	(	50	and	name	HG2	)	5.0	(	50	and	name	HN	)	(	51	and	name	HB*	) 5.0
ì	50	and	name	HN	j	i	52	and	name	HN	ý	5.0	i	50	and	name	HN	ý	i	53	and	name	HD1*	) 5.0
ì	51	and	name	HN	ś	ì	47	and	name	НΔ	ś	5 0	ì	51	and	name	HN	Ś	ì	4.8	and	name	НΔ	) 5 0
;	5 I F 1	and	manic	TINT		)	10	and	manic		{	5.0	,		and	manic	TINT		;	10	and	manic	IIA IIDO	) 5.0
(	51	and	name	HIN	)	(	48	and	name	HB ^	)	5.0	(	51	and	name	HIN	)	(	48	and	name	HDZ	) 5.0
(	51	and	name	HN	)	(	48	and	name	HN	)	5.0	(	51	and	name	HN	)	(	50	and	name	HA	) 3.5
(	51	and	name	HN	)	(	50	and	name	HB1	)	3.5	(	51	and	name	HN	)	(	50	and	name	HB2	) 3.5
(	51	and	name	HN	)	(	50	and	name	HE *	)	5.0	(	51	and	name	HN	)	(	50	and	name	HG1	) 5.0
i	51	and	name	HN	j	i	50	and	name	HG2	ý	5 0	i	51	and	name	HN	ý	i	50	and	name	HN	) 35
ì	51	and	namo	LINI	ś	ì	51	and	namo	цу	ś	3 5	ì	51	and	namo	LIN	ś	ì	51	and	namo	UD*	) 2.7
;	5 I F 1	and	manic	TINT		)	51	and	manic	1177	{	5.5	,		and	manic	TINT		;	51	and	manic	TINT	, 2.,
ļ	- T C	and	maille		(	Ş	52	and	maille	ng2	(	5.0	(	5 T	and	maille		(		2 Z	and	maille		/ 2./
(	21	and	name	HN	)	(	53	and	name	HN	)	5.0	(	51	and	name	HIN	)	(	ο⊥	and	name	HDT *	, 5.0
(	52	and	name	ΗN	)	(	48	and	name	HА	)	5.0	(	52	and	name	HŃ	)	(	48	and	name	HD2	) 5.0
(	52	and	name	HN	)	(	49	and	name	HA	)	5.0	(	52	and	name	HN	)	(	49	and	name	HB2	) 5.0
(	52	and	name	HN	)	(	51	and	name	HA	)	5.0	(	52	and	name	HN	)	(	51	and	name	HB*	) 3.5
ì	52	and	name	HN	í	ì	52	and	name	НА	)	3 5	ì	52	and	name	HN	í	i	52	and	name	HB1	) 5 0
ì	52	and	nomo	LINT	Ś	ì	52	and	nomo	UD 2	ś	2.7	ì	52	and	nomo	LINT	Ś	ì	52	and	nomo	uc1	) 5.0
Ś	52	anu	Itallie	TIN	,	Ç	52	anu	Itallie	пва	(	2.7	(	52	anu	Itallie				52	anu	Itallie	HGI	) 5.0
(	52	and	name	ΗN	)	(	52	and	name	HG2	)	3.5	(	52	and	name	HN	)	(	53	and	name	нв	) 5.0
(	52	and	name	HN	)	(	53	and	name	HD1*	)	5.0	(	53	and	name	HN	)	(	49	and	name	HA	) 5.0
(	53	and	name	HN	)	(	49	and	name	HB2	)	5.0	(	53	and	name	HN	)	(	50	and	name	HA	) 3.5
(	53	and	name	HN	)	(	52	and	name	HA	)	3.5	(	53	and	name	HN	)	(	52	and	name	HB1	) 3.5
ì	53	and	name	LINI	ý	ì	52	and	name	<u>ир</u> 2	Ń	3 5	ì	53	and	namo	LINI	Ń	ì	52	and	name	UC1	) 5 0
;	55	and	manie	TINT		÷	52	and	manie	1102	{	5.5	(	55	and	manie	TINT		;	52	and	manie	INT	, 5.0
Ç	23	and	nalle		!	Ç	52	and	nalle	пси	,	5.0	(	23	and	nalle	LUN	)	(		and	nalle	TIN	1 2.1
(	53	and	name	ΗN	)	(	53	and	name	HА	)	3.5	(	53	and	name	HŃ	)	(	53	and	name	нв	) 2.7
(	53	and	name	HN	)	(	53	and	name	HD1*	)	3.5	(	53	and	name	HN	)	(	53	and	name	HG11	) 2.7
(	53	and	name	HN	)	(	53	and	name	HG12	)	3.5	(	53	and	name	HN	)	(	53	and	name	HG2*	) 5.0
ì	53	and	name	HN	í	ì	54	and	name	HB1	ý	5.0	ì	53	and	name	HN	ń	i	61	and	name	HD1*	) 5 0
)	55	and	name	ЦM	1	ì	60	and	name	нр*	ś	5.0	ì	51	and	name	LINT	1	ì	5 A	and	name	ну	) 5.0
,	55	anu	maille	1111	,	,	509	and	maille	11D -		J.U	(	54	and	maille	TTP2	(	~	50	and	maille	114	, 5.0
(	54	and	name	HN	)	(	50	and	name	нк*	)	5.0	(	54	and	name	ΗŃ	)	(	50	and	name	HGZ	, 5.0
(	54	and	name	HN	)	(	51	and	name	HA	)	5.0	(	54	and	name	HN	)	(	51	and	name	HB*	) 5.0
(	54	and	name	HN	)	(	52	and	name	HB*	)	5.0	(	54	and	name	HN	)	(	52	and	name	HN	) 3.5
Ì	54	and	name	HN	)	(	53	and	name	HA	)	3.5	ì	54	and	name	HN	j	(	53	and	name	HB	) 3.5
ì	54	and	name	HN	ý	ì	52	and	name	HD1*	í	5 0	ì	54	and	name	HN	Ń	ì	52	and	name	HG12	) 5 0
;	54	and	name	TIVI		>	53	and	name	псо* тот	{	2.0		54	and	name	LINT		2	50	and	name	UM	,
(	54	ana	naile	TIN	)	Ç	55	and	naile	пGZ^	)	3.5	(	54	and	naite		)	(	03	ana	naile		/ 2./
(	54	and	name	ΗN	)	(	54	and	name	HA	)	3.5	(	54	and	name	HN	)	(	54	and	name	HBl	) 2.7
(	54	and	name	HN	)	(	54	and	name	HB2	)	2.7	(	54	and	name	HN	)	(	55	and	name	HG2*	) 5.0
Ì	54	and	name	HN	)	(	61	and	name	HD1*	)	5.0	i	54	and	name	HN	)	(	61	and	name	HG11	) 5.0
ì	55	and	name	HN	Ń	ì	52	and	name	на	ś	5 0	ì	55	and	name	HN	Ń	ì	52	and	name	HG2*	) 5 0
)	55	and	nome	LINT		ì	55	and	nome	U7	{	2.0	~	55	and	name	LINT		ì	50	and	nome	UP1	, 5.0
(	22	ana	naille	L11N	)	(	54	and	naille	пА	)	4.1	(	22	and	naille	ПIN	)	1	<del>1</del> ک	ana	naille	прт	, 5.0

357

( 55 and name HN	) ( 54 and name HB2	) 5.0 (55 and name HN	) (54 and name HN )	5 0
( EE and name IN	) ( EE and name II)	) 2 E ( EE and name IIN	) ( EF and name IID )	5.0
				5.0
( 55 and name HN	) ( 55 and name HG2*	) 2.7 (55 and name HN	) (56 and name HN )	3.5
( 55 and name HN	) ( 57 and name HN	) 5.0 ( 55 and name HN	) ( 65 and name HB2 )	5.0
( 55 and name HN	) ( 65 and name HG1	) 3.5 (55 and name HN	) (65 and name HG2 )	5.0
(56 and name HN	) (54 and name $H\Lambda$	) 5.0 (56 and name HN	) (55 and name $\mathbb{H}^{\Lambda}$ )	2 5
( 50 and name IN	) ( SI and name ID	) $2.5$ ( $50$ and name IN	) ( EE and name HGOt )	5.5
( 56 and name HN	) (55 and name HB	) 3.5 ( 56 and name HN	) ( 55 and name HG2* )	5.0
( 56 and name HN	) ( 56 and name HA	) 3.5 ( 56 and name HN	) ( 56 and name HB1 )	5.0
( 56 and name HN	) ( 56 and name HB2	) 3.5 (56 and name HN	) ( 57 and name HA2 )	5.0
(56 and name HN	) (57 and name HN	) 27 (56 and name HN	) (61 and name $HD1*$ )	5 0
( E6 and name IIN	) ( SF and name III)	) E 0 (E6 and name IN	) ( E and name IIC2 )	5.0
( 56 and name HN	) ( 65 and name HGI	) 5.0 ( 56 and name HN	) ( 65 and name HGZ )	5.0
( 57 and name HN	) ( 54 and name HA	) 5.0 (57 and name HN	) (54 and name HB1 )	5.0
(57 and name HN	) (56 and name HA	) 3.5 (57 and name HN	) (56 and name HB1)	5 0
( E7 and name IN	) ( E6 and name IID)	$\rightarrow$ E 0 (E7 and name III)	) (E7 and name UN1 )	2.5
( 57 and name HN	) ( 56 and name HBZ	) 5.0 ( 57 and name HN	) ( 57 and name HAL )	3.5
( 57 and name HN	) ( 57 and name HA2	) 2.7 (58 and name HN	) (56 and name HN )	5.0
( 58 and name HN	) ( 57 and name HA1	) 5.0 (58 and name HN	) (57 and name HA2)	3.5
( E9 and name UN	) (E7 and name HN	) 2 E (E9 and name UN	$( E \theta and name U h)$	2 5
( So and name HN	) ( 57 and name HN	) 3.5 ( 56 and name HN	) ( So and name HA )	3.5
( 58 and name HN	) ( 58 and name HBI	) 5.0 (58 and name HN	) (58 and name HB2 )	3.5
( 58 and name HN	) ( 59 and name HA2	) 5.0 (58 and name HN	) (59 and name HN )	2.7
(58 and name HN	) ( 60 and name HN	) 3.5 (59 and name HN	) (50 and name HE* )	5 0
( 50 and name IN	) ( 57 and name III)	(5) and name IN	) ( 57 and name HDO )	2.0
( 59 and name HN	) ( 57 and name HAI	) 5.0 ( 59 and name HN	) ( 57 and name HAZ )	3.5
( 59 and name HN	) ( 57 and name HN	) 5.0 ( 59 and name HN	) (58 and name HA )	3.5
( 59 and name HN	) ( 58 and name HB2	) 5.0 (59 and name HN	) (59 and name HA1 )	3.5
(59 and name HN	) (59 and name HA2	) 27 (59 and name HN	(60  and name HA)	5 0
( E0 and name IN	) ( 60 and name IID*	$\rightarrow$ E 0 ( 60 and name III	) ( 2E and name UD* )	E 0
( 59 and name HN	) ( 60 and name HD"		) ( 25 and name HB" )	5.0
( 60 and name HN	) ( 25 and name HD2	) 5.0 ( $60$ and name HN	) ( 50 and name HE* )	5.0
( 60 and name HN	) ( 58 and name HA	) 5.0 ( 60 and name HN	) ( 58 and name HB1 )	5.0
(60 and name UN	) (59 and name $U\Lambda^1$	) 35 (60 and name $\Box N$	) (59 and name UA? )	ຊີ⊑
			) ( 59 and name HAZ )	3.5
ou and name HN	) ( 59 and name HN	/ 2./ ( 60 and name HN	, (ou and name HA )	۲.5
( 60 and name HN	) ( 60 and name HB1	) 3.5 ( 60 and name HN	) ( 60 and name HB2 )	5.0
( 60 and name HN	) ( 60 and name HD*	) 3.5 ( 60 and name HN	) ( 61 and name HA )	5.0
( 60 and name III	) ( $61$ and some $IID^{1+}$	$\sim$ 5.0 (61 and name III)	(25  and  500  mm)	5.0
	/ ( of and name HDI*	, 5.0 ( or and name HN	/ ( 25 and name HA )	5.0
( 61 and name HN	) ( 25 and name HB*	) 5.0 (61 and name HN	) (26 and name HB )	3.5
( 61 and name HN	) ( 26 and name HD1*	) 5.0 ( 61 and name HN	) ( 26 and name HG2* )	5.0
( 61 and name HN	) ( 27 and name HA	) 5.0 (61 and name HN	) ( 50 and name $HE^*$ )	3 5
( C1 and name IN		) 2.7 (Cl and name IN)	) ( CO and name IID1 )	5.5
( 61 and name HN	) ( 60 and name HA	) 2.7 (61 and name HN	) ( 60 and name HBL )	5.0
( 61 and name HN	) ( 60 and name HB2	) 3.5 (61 and name HN	) ( 60 and name HD* )	5.0
( 61 and name HN	) ( 60 and name HN	) 5.0 (61 and name HN	) (61 and name HA )	3.5
( 61 and name HN	) ( 61 and name UP	) $2.7$ ( $61$ and name HN	) ( $61$ and name $401*$ )	2 5
		) $2.7$ ( $01$ and name inv	(01  and name ID1)	5.5
( 61 and name HN	) ( 61 and name HGII	) 5.0 ( 61 and name HN	) ( 61 and name HG12 )	5.0
( 61 and name HN	) ( 61 and name HG2*	) 5.0 (62 and name HN	) ( 61 and name HA )	2.7
( 62 and name HN	) ( 61 and name HB	) 5.0 (62 and name HN	) ( 61 and name HD1* )	5.0
( 62 and name HN	) ( 61 and name HG2*	) 3.5 (62 and name HN	(62  and name HA)	35
( 62 and name HN	) ( 62 and name $HP1$	$\rightarrow$ 5.5 ( 52 and name HN	(62  and name HP)	2 5
				5.5
( 62 and name HN	) ( 63 and name HN	) 5.0 (62 and name HN	) (64 and name HN )	5.0
( 62 and name HN	) ( 65 and name HA	) 5.0 (62 and name HN	) ( 65 and name HB1 )	2.7
( 62 and name HN	) ( 65 and name HB2	) 3.5 (62 and name HN	) ( 65 and name HG1 )	5.0
( 62 and name HN	) ( 65 and name HG2	) 5.0 (62 and name HN	) (65 and name HN )	3 5
( C) and name IN		) 5.0 ( 62 and name IN	) ( CC and name IIN )	5.5
( 62 and name HN	) ( 66 and name HBZ	) 5.0 (62 and name HN	) (66 and name HN )	5.0
( 63 and name HN	) ( 15 and name HE*	) 5.0 (63 and name HN	) ( 15 and name HZ )	5.0
( 63 and name HN	) ( 25 and name HA	) 5.0 (63 and name HN	) (62 and name HA )	2.7
63 and name HN	) ( 62 and name HB1	) 27 (63 and name HN	(62  and name HB2)	3 5
( 62 and name HN	) ( 62 and name $H^{\Lambda}$	25.7 (53  and name III)	(62  and name HD2)	2 5
( 65 and name HN	) ( 05 and name HA	) 3.5 ( 65 and name HN	) ( 65 and name HBL )	3.5
( 63 and name HN	) ( 63 and name HB2	) 2.7 (63 and name HN	) ( 63 and name HD* )	5.0
( 63 and name HN	) ( 64 and name HB1	) 5.0 (63 and name HN	) ( 64 and name HB2 )	5.0
63 and name HN	) ( 64 and name HN	) 3.5 (63 and name HN	) (66 and name HN )	5 0
( CA and name UEO1	) ( C1 and name II)	) 5.5 ( 05 and name III)	) ( CA and name UD1 )	5.0
( 64 and name HEZI	) ( 64 and name HA	) 5.0 ( 64 and name HEZI	) ( 64 and name HBL )	5.0
( 64 and name HE21	) ( 64 and name HB2	) 5.0 (64 and name HE21	) ( 64 and name HGl )	3.5
( 64 and name HE21	) ( 64 and name HG2	) 3.5 (64 and name HE21	) ( 67 and name HB )	5.0
(64 and name HF21	) ( 67 and name HC?*	) 5.0 (64 and name HF21	) (68 and name HA)	5 0
( C1 and name HE21	) ( $0$ and name IID1	) 5.0 ( 01 and name HE21	) ( CA and name IIP )	5.0
				5.0
( 64 and name HE22	) ( 64 and name HG1	) 5.0 (64 and name HE22	) ( 64 and name HG2 )	5.0
( 64 and name HE22	) ( 67 and name HB	) 5.0 (64 and name HE22	) ( 67 and name HG2* )	5.0
( 64 and name HN	) ( 62 and name HA	) 5.0 (64 and name HN	) ( 62 and name HR1 )	3.5
		$\rangle = 0$ ( $C_{1}$ and finding find	) ( 62 and name IDI )	5.5
( 64 and name HN	, toz and name HB2	, 5.0 (64 and name HN	( 63 and name HA )	2.0
( 64 and name HN	) ( 63 and name HB1	) 3.5 ( 64 and name HN	) ( 63 and name HB2 )	5.0
( 64 and name HN	) ( 63 and name HD*	) 5.0 (64 and name HN	) ( 64 and name HA )	3.5
( 64 and name HN	) ( 64 and name HR1	) 3.5 (64 and name HN	) ( 64 and name HR2 )	3.5
( CA and name IN	) ( CA and name HOI	) 5.5 ( 61 and name IN	) ( CA and name HC2 )	- 0
, ou and name HN	/ to the and name HGI	, S.U (64 and name HN	/ 04 and name HGZ )	5.0
( 64 and name HN	) ( 65 and name HN	) 3.5 (64 and name HN	) ( 67 and name HB )	5.0
( 64 and name HN	) ( 67 and name HN	) 5.0 (65 and name HN	) ( 61 and name HG2* )	5.0
( 65 and name HN	) ( 62 and name HA	) 5.0 (65 and name HN	) (62 and name HB1 )	5 0
( CE and name III	) ( 62 and name IIC	) E O ( E and name III	) (62 and name UD)	E 0
( 05 and name HN			( CA and Halle HA )	2.0
( 65 and name HN	) ( 63 and name HN	) 5.0 (65 and name HN	) (64 and name HA )	5.0
( 65 and name HN	) ( 64 and name HG1	) 5.0 (65 and name HN	) ( 64 and name HG2 )	5.0
( 65 and name HN	) ( 65 and name HA	) 3.5 (65 and name HN	) (65 and name HB1 )	3.5
( 65 and name UN	) ( $65$ and name UD?	35 (65 and name III)	) ( 65 and name $UC1$ )	5.0
			) ( CT and name HGI )	5.0
( 65 and name HN	) ( 65 and name HG2	) 5.0 (65 and name HN	) ( b/ and name HB )	2.0
( 65 and name HN	) ( 67 and name HN	) 5.0 (66 and name HN	) ( 15 and name HD* )	5.0
( 66 and name HN	) ( 15 and name HE*	) 5.0 (66 and name HN	) ( 53 and name HG2* )	5.0
(66 and name HN	) ( 61 and name HD1*	) 5.0 ( $66$ and name HN	) ( 61 and name HC2* )	3 5
	( 01 and name nD1")	$\rightarrow$	(62  and name IIG2")	5.0
, oo ang name HN	, tos and name HA	, s.s ( oo and name HN	( 03 and name HD^ )	2.0
( 66 and name HN	) ( 64 and name HA	) 5.0 ( 66 and name $HN$	) ( 64 and name HBl )	5.0
( 66 and name HN	) ( 64 and name HN	) 5.0 (66 and name HN	) ( 65 and name HA )	3.5
( 66 and name HN	) ( 65 and name HR1	) 3.5 (66 and name HN	) ( 65 and name HB2 )	3.5
66 and name IN	) ( $65$ and name $1101$	5.0 ( 66 and some UN	(65 and name IIC2)	5.0
, oo and name HN	/ ( os and name HGL	, 5.0 ( oo and name HN	/ ( os and name HGZ )	5.0
( 66 and name HN	) ( 65 and name HN	) 3.5 (66 and name HN	) (66 and name HA )	3.5
( 66 and name HN	) ( 66 and name HB1	) 2.7 (66 and name HN	) ( 66 and name HB2 )	2.7
( 66 and name HN	) ( 66 and name HD*	) 5.0 (66 and name HN	) (67 and name HB)	5.0
(66 and name UN	) (67 and name UN	) 35 (67 and name $\Box M$	) ( 61 and name $\square \square ? * )$	5 0
			, ( or and name nez )	J.U

(	67	and	name	HN	) (	64	and	name	HA	) (	3.5 (	67	and	name	HN )	(	65	and
ì	67	and	nomo	LINT	í ì	66	and	nomo	UЛ	Ś	2 5 (	67	and	nomo	LINT )	ì	66	and
(	07	ana	name	HIN	) (	00	and	name	пА	/ -	5.5 (	07	and	name	HIN )	(	00	ana
(	67	and	name	HN	) (	66	and	name	HB2	) [	5.0 (	67	and	name	HN )	(	66	and
ì	67	and	namo	LINI	λ i	67	and	namo	<u>ил</u>	j.	25 (	67	and	name	UN )	i	67	and
÷	67	and	manie	1110	( )	67	anu	manie	IIA IIA	( )	5.5 (	67	and	manie	111N )		201	anu
(	67	and	name	HN	) (	67	and	name	HG2*	) !	5.0 (	67	and	name	HN )	(	68	and
(	68	and	name	HN	) (	64	and	name	НА .	) (	50 (	68	and	name	HN )	(	64	and
2	60	and	manne	TINT	$\langle \rangle$	<i>C</i> 1	and	manne	110+	/ ·		60	and	manne		ì	с г	and
(	68	ana	name	HN	) (	64	ana	name	HG^	) :	5.0 (	68	ana	name	HN )	(	65	ana
(	68	and	name	HN	) (	66	and	name	HA	) [	5.0 (	68	and	name	HN )	(	66	and
ì	60	and	nomo	LINT	í ì	67	and	nomo	UЛ	í i		60	and	nomo	LINT )	ì	67	and
(	00	ana	name	HIN	) (	07	and	name	пА	) :	5.0 (	00	and	name	HIN )	(	0/	ana
(	68	and	name	HN	) (	67	and	name	HG2*	) (	3.5 (	68	and	name	HN )	(	67	and
i	68	and	name	HN	) (	68	and	name	ЧΔ	) ·	35 (	68	and	name	HN )	i	68	and
	00	ana	manic	1110	( )	00	ana	manic	1124	( )	5.5 (	00	ana	manic	1111 )	· ·	20	ana
(	68	and	name	HN	) (	69	and	name	HN ,	) 1	3.5 (	69	and	name	HN )	(	53	and
i	69	and	name	HN	) (	66	and	name	ЧΔ	) ·	35 (	69	and	name	HN )	i	67	and
÷	~~~	and	manic		<pre>/ ``</pre>	60	ana	manic				~~~	ana	manic		)	20	unia ,
(	69	and	name	HN	) (	67	and	name	HN ,	) :	5.0 (	69	and	name	HN )	(	68	and
(	69	and	name	HN	) (	68	and	name	HB*	) (	2.7 (	69	and	name	HN )	(	69	and
ì	ĉõ			TINT	$\langle \rangle$	<i>c</i> 0			IID1	( -		ĉõ				ì	ĉõ	- mail
(	69	ana	name	HIN	) (	69	and	name	пы ,	) .	5.5 (	69	and	name	HIN )	(	69	anu
(	69	and	name	HN	) (	69	and	name	HD*	) (	3.5 (	69	and	name	HN )	(	70	and
ì	60	and	nomo	TINT	í ì	70	and	nomo	TINT	( 2		60	and	nomo		ì	71	and
(	09	anu	Italle	пім	) (	10	anu	Itallie	пи	/ -	5.5 (	09	anu	Itallie	IIN )	(	1	anu
(	69	and	name	HN	) (	72	and	name	HB*	) [	5.0 (	70	and	name	HN )	(	53	and
i	70	and	name	HN	) (	66	and	name	ЧΔ	) [	50 (	70	and	name	HN )	i	68	and
÷		and	manic		<pre>/ ``</pre>	60	ana	manic				70	ana	manic		)	20	unia ,
(	70	and	name	HN	) (	69	and	name	HA ,	) .	3.5 (	70	and	name	HN )	(	69	and
(	70	and	name	HN	) (	69	and	name	HB2	) (	3.5 (	70	and	name	HN )	(	69	and
ì	70			TINT	$\langle \rangle$	70			117 1	( ·	оло (	70			TTNT )	ì	70	
(	/0	ana	name	HIN	) (	70	and	name	HAL	) -	3.5 (	/0	and	name	HN )	(	/0	ana
(	70	and	name	HN	) (	71	and	name	HG1	) [	5.0 (	71	and	name	HE )	(	67	and
ì	71	and	nomo	UD	λ i	60	and	nomo	U7 -	, i	E O Ì	71	and	n	י דר ו	i	71	and
	11	anu	manie	1115	( )	00	and	name	114	( )	5.0 (	/1	and	manie	1112 )		<u>'</u>	and
(	./ T	and	name	HE	) (	./ T	and	name	HB2	) 1	3.5 (	./ T	and	name	HE )	(	./ T	and
(	71	and	name	HE	) (	71	and	name	HD2	) '	3.5 (	71	and	name	HE )	(	71	and
>	· -				· ·	, <u>+</u>	~ ~ ~ ?		1100	<u>,</u>		, ±			/	>	· ±	
(	/⊥	and	name	ны	) (	/⊥	and	name	HG2	) !	5.U (	1/1	and	name	HN )	(	67	and
(	71	and	name	HN	) (	68	and	name	HA	) [	5.0 (	71	and	name	HN )	(	69	and
ì	71	224	nome	LINT	i i	60	and	nome	עדע :	, ,	5 0 /	71	222	nome	UNT V	ì	70	and
(	/ 1	ana	naille	LTTN	11	29	ana	naille	п	, :	J.U (	11	and	naille	пи )	1	10	and
(	71	and	name	HN	) (	70	and	name	HA2	) (	3.5 (	71	and	name	HN )	(	70	and
i	71	and	name	HN	) i	71	and	name	нъ	)	<b>3</b> Γ, '	71	and	name	HN V	i	71	and
>	/ <u>1</u>	unu	manne	1 1 L N	( )	/ <u>1</u>	unu	manie	11171	( )		/ ±	und	maille	1111 )	>	, ±	unq
(	71	and	name	HN	) (	71	and	name	HD* ,	) :	5.0 (	71	and	name	HN )	(	71	and
(	71	and	name	HN	) (	71	and	name	HG2	) [	5.0 (	71	and	name	HN )	(	72	and
ì	70	and	nomo	TINT	$\langle \rangle$	60	and	nomo	1100	, . , .		70	and	nomo	TINT )	ì	70	and
(	12	ana	name	HIN	) (	69	and	name	па ,	) :	5.0 (	12	and	name	HIN )	(	10	anu
(	72	and	name	HN	) (	70	and	name	HA2	) [	5.0 (	72	and	name	HN )	(	71	and
ì	72	and	name	HN	i i	71	and	name	ив*	j ·	25 i	72	and	name	HN )	i	71	and
	/2	anu	manie	1110	/ (	/ 1	anu	manie	IID	/ .	5.5 (	72	and	manie	1111 )	(	11	anu
(	72	and	name	HN	) (	./ T	and	name	HN ,	) .	3.5 (	72	and	name	HN )	(	72	and
(	72	and	name	HN	) (	72	and	name	HR*	) (	27 (	72	and	name	HN )	(	73	and
2	70	and	manne	TINT	$\langle \rangle$	72	and	manne	TINT	( <del>-</del>		72	and	manne		ì	<i>c</i> 0	and
(	12	ana	name	HN	) (	13	ana	name	HN ,	) 4	2./ (	13	ana	name	HDZI )	(	69	ana
(	73	and	name	HD21	) (	72	and	name	HB*	) (	3.5 (	73	and	name	HD21 )	(	73	and
ì	73	and	namo	uр21	í ì	72	and	namo	UD2 -	í.	35 (	73	and	name		ì	69	and
(	13	anu	Italle	прат	) (	13	anu	Itallie	пьг	/ .	5.5 (	13	anu	Itallie	прад )	(	09	anu
(	73	and	name	HD22	) (	72	and	name	HB*	) [	3.5 (	73	and	name	HD22 )	(	73	and
(	73	and	name	HD22	) (	73	and	name	HB2	) '	3.5 (	73	and	name	HN )	(	70	and
ì	72			TINT	$\langle \rangle$	70			1120	, . , ,		72			TINT )	ì	71	
(	15	ana	name	HIN	) (	10	and	name	HAZ	) :	5.0 (	15	and	name	HIN )	(	11	and
(	73	and	name	HN	) (	72	and	name	HA	) (	3.5 (	73	and	name	HN )	(	72	and
i	72	and	namo	LINI	) (	72	and	namo	U7 .	· ·	35 (	73	and	name	LINT )	i	72	and
Ş	75	and	manie	1110	( )	15	anu	manie	IIA .	( )	J.J (	75	and	manie	111N )		13	anu
(	13	ana	name	HN	) (	13	ana	name	HBZ ,	) .	3.5 (	13	ana	name	HN )	(	13	ana
(	73	and	name	HN	) (	73	and	name	HD22	) [	5.0 (	74	and	name	HE )	(	74	and
ì	74	and	nomo	TID	í ì	74	and	nomo	11101	) I		71	and	nomo		ì	7 /	and
(	/4	ana	name	пь	) (	/4	and	name	пы	) :	5.0 (	/4	and	name	пь )	(	/4	ana
(	74	and	name	HE	) (	74	and	name	HD1	) (	3.5 (	74	and	name	HE )	(	74	and
ì	71	and	nomo	UD	λ i	74	and	nomo	UC1	, i	E O Ì	74	and	n	י דר ו	i	74	and
	11	anu	manie	1115	( )	/ 1	and	name	1161	( )	5.0 (	/1	and	manie	1112 )		11	and
(	74	and	name	HN	) (	72	and	name	HA ,	) !	5.0 (	74	and	name	HN )	(	72	and
(	74	and	name	HN	) (	72	and	name	HN	) [	50 (	74	and	name	HN )	(	73	and
2	7 4	and	manne	TINT	$\langle \rangle$	72	and	manne	III I	/ ·		7 4	and	manne		ì		and
(	/4	ana	name	HIN	) (	13	and	name	HBI ,	) :	5.0 (	/4	and	name	HN )	(	13	ana
(	74	and	name	HN	) (	73	and	name	HN	) (	3.5 (	74	and	name	HN )	(	74	and
ì	71	and	nomo	LINT	í ì	74	and	nomo	UD1	í.	27	74	and	nomo		ì	74	and
(	/4	anu	maille	1111	1	/4	anu	maille	тот 	/ ·	<u> </u>	/4	and	maille	TTTA )	1	<u>'</u> +	and
(	74	and	name	HN	) (	74	and	name	HD*	) !	5.0 (	74	and	name	HN )	(	74	and
í	74	and	name	HN	) (	75	and	name	нд2	) [	50 (	74	and	name	HN )	i	75	and
>		7	manic	1117	( )		7	manic	117	( ·			7	manie	1111	>	, J	7
(	75	and	name	HN	) (	73	and	name	HA ,	) :	5.0 (	75	and	name	HN )	(	73	and
(	75	and	name	HN	) (	74	and	name	HA	) (	3.5 (	75	and	name	HN )	(	74	and
ì	75	and	namo	LINI	i i	71	and	namo	רסט ל	) I	50 <sup>(</sup>	75	and	name	UNI V	ì	71	and
(	15	anu	Italle	пім	) (	/4	anu	Itallie	пра	/ -	5.0 (	15	anu	Itallie	III )	(	/4	anu
(	75	and	name	HN	) (	74	and	name	HG2	) [	5.0 (	75	and	name	HN )	(	75	and
ĺ	75	and	name	HN	) (	75	and	name	HA2	) '	2.7 i	75	and	name	HN Ì	í	76	and
>					· ·	, , ,	~ ~ ~ ?		117	, <u>,</u>					/	>		
(	16	and	name	HIN	) (	13	and	name	HА	) :	5.U (	/6	and	name	HN)	(	13	and
(	76	and	name	HN	) (	74	and	name	HN	) [	5.0 (	76	and	name	HN )	(	75	and
ì	76	224	nome	LINT	i i	76	and	nome	י גע	ί, ·	3 5 (	76	222	nome	UNT V	ì	75	and
(	10	ana	naille	LTTN	11	10	ana	naille	пад		J.J (	10	and	naille	пи )	ļ	10	and
(	76	and	name	HN	) (	76	and	name	HA	) (	3.5 (	76	and	name	HN )	(	76	and
i	76	and	name	HN	ìí	76	and	name	HB2	)	27 i	76	and	name	HN V	i	76	and
ļ	10	and	manne	1111	( )	10	and	manie	1102	/ 4	<u> </u>	70	and	manne	111N )	Ş	10	and
(	76	and	name	HN	) (	76	and	name	HD2*	) !	5.0 (	76	and	name	HN )	(	16	and
(	76	and	name	HN	) (	77	and	name	HN	) 1	2.7 (	76	and	name	HN )	(	78	and
ì		222	22200	LINT	<pre>\'</pre>	71	and	222.00	<u>цл</u>	ί ί	Γ. )		2200	nome	LINI \	)	75	222
1	11	ana	naille	LIN	1	/4	ana	naille	пА ,	, :	J.U (	_ / /	and	naille	LTTA )	(	10	and
(	77	and	name	HN	) (	75	and	name	HA2	) [	5.0 (	77	and	name	HN )	(	75	and
i	77	and	name	HN	) ì	76	and	name	на	)	3.5 <i>ì</i>	77	and	name	HN V	i	76	and
>	, , , ,		manic	TINT	/ \	, 0		in a mo	117	<u> </u>				manie	/	>	, 0	
(	TT	and	name	HN	) (	11	and	name	HA	) .	3.5 (	11	and	name	HN )	(	11	and
(	77	and	name	HN	) (	77	and	name	HD1*	) (	5.0 (	77	and	name	HN )	(	77	and
ì	., 77	and	nome	LINT	{ }		and	nome	HC .	í ?	2 5 (	70	222	nome	LINT \	ì	75	and
(	11	and	nalle	LTIN	) (	_ / /	and	nalle	пС		J.J (	18	and	nalle	лим )	(	15	and
(	78	and	name	HN	) (	75	and	name	HA2	) !	5.0 (	78	and	name	HN )	(	77	and
ì	7 8	and	name	HN	j ì	77	and	name	HB1	ji	50 ì	78	and	name	HN V	ì	77	and
ì	10	unu	manne	111N	( )	<u>'</u> <u>'</u>	Juna	manie	TTD 1	(		10	unu	manie		>	, /	unu
(	./8	and	name	HN	) (	77	and	name	HD1*	) !	5.0 (	.78	and	name	HN )	(	17	and
ĺ	78	and	name	HN	) (	77	and	name	HG	) [	5.0 i	78	and	name	HN )	(	77	and
>	70	07.2	nomi	TINT	<pre>/ ``</pre>	70	~~~~ J	nomi	117	( )			0	nome	TINT )	>	., 70	0
(	18	and	name	HIN	) (	18	and	name	нА		J.J (	18	and	name	HIN )	(	18	and
(	78	and	name	HN	) (	78	and	name	HD*	) !	5.0 (	78	and	name	HN )	(	78	and
ì	70	and	namo	HM	j i	70	and	name	HG2	j	35,	70	and	name	HN V	ì	70	and
ļ	/0	and	maille	1111	1	/0	and	maille	1192	/ -	J.J (	/0	and	maille	, NTLI	ļ	17	and
(	78	and	name	HN	) (	.79	and	name	HN	) 2	2.7 (	78	and	name	HN )	(	80	and
i	79	and	name	HN	) (	75	and	name	нд1	) [	5.0 i	79	and	name	HN I	i	76	and
>		7	manne	1 11 N	· ·	, ,		manne	TTD 1	<u> </u>			7	manne	1111	>	, ,	<sup>7</sup>
(	./9	and	name	HN	) (	77	and	name	HD1*	) !	5.0 (	.79	and	name	HN )	(	/8	and
(	79	and	name	HN	) (	78	and	name	HB*	) '	3.5 (	79	and	name	HN )	(	78	and
ì	70	22-1	no====	LINT	í í	70	22-1	n	UC1	, . , ,	5 0	70		n		ì	70	222
- Ç	13	and	maille	1111	1	10	and	maille	TOT ,	, :	J.U (	19	and	maille	) ( NTLT	(	10	and
(	79	and	name	HN	) (	79	and	name	HA '	) '	3.5 (	79	and	name	HN )	(	.79	and

(	79	and	name	HN	)	)	(	79	and	name	HB2	)	3.5	(	79	and	name	HN	)	(	80	and	name	HG2*	)	5.0
(	79	and	name	HN	)	)	(	80	and	name	HN	)	2.7	(	79	and	name	HN	)	(	81	and	name	HB*	)	5.0
(	80	and	name	HN	)	)	(	77	and	name	HA	)	3.5	(	80	and	name	HN	)	(	77	and	name	HD1*	)	5.0
(	80	and	name	HN	j	)	Ì	79	and	name	HA	)	3.5	(	80	and	name	HN	)	Ì	79	and	name	HB1	)	3.5
Ì	80	and	name	HN	ý	)	ì	79	and	name	HB2	ý	5.0	ì	80	and	name	HN	ý	Ì	80	and	name	HA	ý	3.5
ì	80	and	name	HN	í	)	ì	80	and	name	HB	ý	3.5	ì	80	and	name	HN	ý	ì	80	and	name	HG1*	ý	5.0
ì	80	and	name	HN	í	Ś	ì	80	and	name	HG2*	ý	2.7	ì	80	and	name	HN	ý	ì	81	and	name	HB*	ś	5.0
ì	80	and	name	HN	í	Ś	ì	82	and	name	HN	ý	5.0	ì	81	and	name	HN	ý	ì	77	and	name	HB*	ś	5.0
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	77	and	name	HD1*	ý	5.0	ì	81	and	name	HN	ý	ì	78	and	name	HA	ś	5.0
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	79	and	name	HA	ý	5.0	ì	81	and	name	HN	ý	ì	79	and	name	HB1	ś	5.0
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	79	and	name	HN	ý	5.0	ì	81	and	name	HN	ý	ì	80	and	name	HA	ś	3.5
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	80	and	name	HB	ý	3.5	ì	81	and	name	HN	ý	ì	80	and	name	HG1*	ś	5.0
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	80	and	name	HG2*	ý	5.0	ì	81	and	name	HN	ý	ì	80	and	name	HN	ś	2.7
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	81	and	name	HA	ý	3.5	ì	81	and	name	HN	ý	ì	81	and	name	HB*	ś	2.7
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	82	and	name	HB*	ý	5.0	ì	81	and	name	HN	ý	ì	82	and	name	HN	ś	3.5
ì	81	and	name	HN	í	Ś	ì	83	and	name	HN	ý	5.0	ì	82	and	name	HN	ý	ì	79	and	name	HA	ś	5.0
ì	82	and	name	HN	í	Ś	ì	80	and	name	HA	ý	5.0	ì	82	and	name	HN	ý	ì	80	and	name	HG1*	ý	5.0
ì	82	and	name	HN	ĵ	Ś	ì	81	and	name	HA	ý	3.5	ì	82	and	name	HN	ý	ì	81	and	name	HB*	ý	3.5
Ì	82	and	name	HN	ĵ	)	ì	82	and	name	HA	ý	3.5	ì	82	and	name	HN	ý	ì	82	and	name	HB*	)	2.7
Ì	82	and	name	HN	j	)	ì	82	and	name	HD*	ĵ.	5.0	ì	82	and	name	HN	ý	Ì	82	and	name	HG1	)	3.5
(	82	and	name	HN	j	)	(	82	and	name	HG2	)	3.5	(	82	and	name	HN	)	Ì	83	and	name	HB	)	5.0
(	82	and	name	HN	j	)	(	83	and	name	HG12	)	5.0	(	83	and	name	HN	)	Ì	80	and	name	HA	)	5.0
(	83	and	name	HN	j	)	(	80	and	name	HG1*	)	5.0	(	83	and	name	HN	)	Ì	81	and	name	HA	)	5.0
(	83	and	name	HN	j	)	(	82	and	name	HA	)	3.5	(	83	and	name	HN	)	(	82	and	name	HB*	)	3.5
(	83	and	name	HN	)	)	(	82	and	name	HG1	)	5.0	(	83	and	name	HN	)	(	82	and	name	HG2	)	5.0
(	83	and	name	HN	)	)	(	82	and	name	HN	)	2.7	(	83	and	name	HN	)	(	83	and	name	HA	)	3.5
(	83	and	name	HN	)	)	(	83	and	name	HB	)	3.5	(	83	and	name	HN	)	(	83	and	name	HD1*	)	5.0
(	83	and	name	HN	)	)	(	83	and	name	HG11	)	3.5	(	83	and	name	HN	)	(	83	and	name	HG12	)	3.5
(	83	and	name	HN	)	)	(	83	and	name	HG2*	)	5.0	(	83	and	name	HN	)	(	84	and	name	HB2	)	5.0
(	83	and	name	HN	)	)	(	84	and	name	HD*	)	5.0	(	84	and	name	HN	)	(	80	and	name	HG1*	)	5.0
(	84	and	name	HN	)	)	(	81	and	name	HB*	)	5.0	(	84	and	name	HN	)	(	82	and	name	HA	)	5.0
(	84	and	name	HN	)	)	(	82	and	name	HB*	)	5.0	(	84	and	name	HN	)	(	82	and	name	HN	)	5.0
(	84	and	name	HN	)	)	(	83	and	name	HA	)	3.5	(	84	and	name	HN	)	(	83	and	name	HB	)	3.5
(	84	and	name	HN	)	)	(	83	and	name	HD1*	)	5.0	(	84	and	name	HN	)	(	83	and	name	HG11	)	5.0
(	84	and	name	HN	j	)	(	83	and	name	HG12	)	5.0	(	84	and	name	HN	)	(	83	and	name	HG2*	)	3.5
(	84	and	name	HN	)	)	(	83	and	name	HN	)	2.7	(	84	and	name	HN	)	(	84	and	name	HA	)	3.5
(	84	and	name	HN	j	)	(	84	and	name	HB1	)	5.0	(	84	and	name	HN	)	(	84	and	name	HB2	)	2.7
(	84	and	name	HN	j	)	(	84	and	name	HD*	)	3.5						,							

# 10.5.3.2 Abstandsbeschränkungen aus dem 3D-1H,13C-NOESY-HSQC

(	4	and	name	HA	)	(	5	and	name	HG*	)	5.0	(	4	and	name	HA	)	(	5	and	name	HD*	)	2.7
(	36	and	name	HA	)	(	41	and	name	HG2*	)	5.0	(	37	and	name	HB	)	(	83	and	name	HD1*	)	5.0
(	37	and	name	HG2*	)	(	83	and	name	HD1*	)	5.0	(	41	and	name	HG2*	)	(	49	and	name	HE*	)	5.0
(	41	and	name	HD1*	)	(	49	and	name	HG1	)	5.0	(	41	and	name	HD1*	)	(	49	and	name	HE*	)	5.0

## 10.5.3.3 Abstandsbeschränkungen aus dem 2D-NOESY in D<sub>2</sub>O

(	4	and	name	HD2	)	(	4	and	name	HA	)	5.0 (	4	and	name	HD2	)	(	4	and	name	HB*	)	3.5
(	4	and	name	HD2	)	(	5	and	name	HD*	)	5.0 (	4	and	name	HE1	)	(	б	and	name	HB1	)	5.0
(	15	and	name	HD*	)	(	12	and	name	HA	)	5.0 (	15	and	name	HD*	)	(	15	and	name	HA	)	3.5
(	15	and	name	HD*	)	(	15	and	name	HB1	)	2.7 (	15	and	name	HD*	)	(	15	and	name	HB2	)	2.7
(	15	and	name	HD*	)	(	16	and	name	HA	)	5.0 (	15	and	name	HD*	)	(	16	and	name	HB*	)	5.0
(	15	and	name	HD*	)	(	16	and	name	HG1	)	5.0 (	15	and	name	HD*	)	(	16	and	name	HG2	)	5.0
(	15	and	name	HD*	)	(	26	and	name	HG11	)	5.0 (	15	and	name	HD*	)	(	26	and	name	HD1*	)	3.5
(	15	and	name	HD*	)	(	61	and	name	HG2*	)	5.0 (	15	and	name	HD*	)	(	63	and	name	HA	)	5.0
(	15	and	name	HD*	)	(	66	and	name	HB1	)	5.0 (	15	and	name	HD*	)	(	66	and	name	HB2	)	5.0
(	15	and	name	HD*	)	(	66	and	name	HE*	)	5.0 (	15	and	name	HE *	)	(	19	and	name	HB2	)	5.0
(	15	and	name	HE*	)	(	24	and	name	HA1	)	5.0 (	15	and	name	HE *	)	(	24	and	name	HA2	)	5.0
(	15	and	name	HE*	)	(	25	and	name	HA	)	5.0 (	15	and	name	HE *	)	(	26	and	name	HG11	)	5.0
(	15	and	name	HE*	)	(	26	and	name	HG12	)	5.0 (	15	and	name	HE*	)	(	26	and	name	HD1*	)	2.7
(	15	and	name	HE*	)	(	61	and	name	HG2*	)	2.7 (	15	and	name	HE*	)	(	62	and	name	HA	)	5.0
(	15	and	name	HE *	)	(	63	and	name	HA	)	3.5 (	15	and	name	HE *	)	(	63	and	name	HB1	)	5.0
(	15	and	name	HE *	)	(	63	and	name	HB2	)	5.0 (	15	and	name	ΗZ	)	(	25	and	name	HA	)	3.5
(	15	and	name	HZ	)	(	26	and	name	HD1*	)	5.0 (	15	and	name	ΗZ	)	(	62	and	name	HA	)	5.0
(	18	and	name	HD*	)	(	15	and	name	HA	)	2.7 (	18	and	name	HD*	)	(	18	and	name	HA	)	5.0
(	18	and	name	HD*	)	(	18	and	name	HB1	)	2.7 (	18	and	name	HD*	)	(	18	and	name	HB2	)	3.5
(	18	and	name	HD*	)	(	14	and	name	HG2*	)	3.5 (	18	and	name	HD*	)	(	26	and	name	HG2*	)	3.5
(	18	and	name	HD*	)	(	31	and	name	HA	)	3.5 (	18	and	name	HD*	)	(	31	and	name	HG	)	5.0
(	18	and	name	HD*	)	(	31	and	name	HD2*	)	5.0 (	18	and	name	HD*	)	(	34	and	name	HB*	)	2.7
(	18	and	name	HD*	)	(	80	and	name	HG1*	)	5.0 (	18	and	name	HE*	)	(	14	and	name	HB	)	5.0
(	18	and	name	HE*	)	(	14	and	name	HG2*	)	3.5 (	18	and	name	HE*	)	(	14	and	name	HD1*	)	5.0
(	18	and	name	HE*	)	(	18	and	name	HA	)	5.0 (	18	and	name	HE*	)	(	31	and	name	HD2*	)	5.0
(	18	and	name	HE*	)	(	34	and	name	HB*	)	3.5 (	18	and	name	HE*	)	(	35	and	name	HD2*	)	5.0
(	18	and	name	HE*	)	(	66	and	name	HE*	)	3.5 (	18	and	name	HE*	)	(	80	and	name	HG1*	)	3.5
(	18	and	name	HE*	)	(	80	and	name	HG2*	)	5.0 (	48	and	name	HD2	)	(	48	and	name	HA	)	5.0
(	48	and	name	HD2	)	(	48	and	name	HB*	)	5.0 (	48	and	name	HD2	)	(	51	and	name	HB*	)	5.0
(	60	and	name	HD*	)	(	25	and	name	HB1	)	5.0 (	60	and	name	HD*	)	(	25	and	name	HB2	)	5.0
(	60	and	name	HD*	)	(	25	and	name	HG2	)	3.5 (	60	and	name	HD*	)	(	25	and	name	HD1	)	5.0
(	60	and	name	HD*	)	(	25	and	name	HD2	)	5.0 (	60	and	name	HD*	)	(	25	and	name	HEL	)	5.0
(	60	and	name	HD*	)	(	25	and	name	HE2	)	5.0 (	60	and	name	HD*	)	(	26	and	name	HA	)	5.0
(	60	and	name	HD*	)	(	27	and	name	HA	)	2.7 (	60	and	name	HD*	)	(	27	and	name	HB1	)	5.0

(	60	and	name	HD*	)	(	27	and	name	HB2	)	3.	5 (	60	and	name	HD*	)	(	59	and	name	HA1	)	5.0
(	60	and	name	HD*	j	Ì	60	and	name	HA	)	3.	5 (	60	and	name	HD*	j	Ì	60	and	name	HB1	)	2.7
Ì	60	and	name	HD*	)	Ì	60	and	name	HB2	)	2.	7 Ì	60	and	name	HE*	)	(	25	and	name	HB2	)	5.0
ì	60	and	name	HE*	ý	ì	25	and	name	HG2	ý	5.	o ì	60	and	name	HE*	ý	ì	25	and	name	HD1	ý	5.0
ì	60	and	name	HE*	ś	ì	25	and	name	HD2	ś	5	õ ì	60	and	name	HE*	ś	ì	25	and	name	HE1	ś	5.0
ì	60	and	name	нг*	ś	ì	25	and	name	HF2	ś	3.	5 (	60	and	name	нг*	ś	ì	27	and	name	НΔ	ś	3 5
ì	60	and	name	иг*	ś	ì	27	and	name	HB1	5	3.	5 (	60	and	name	и <b>г</b> *	Ś	ì	27	and	name	HB2	1	2 7
ì	60	and	namo	11D UF*	Ś	ì	50	and	namo	UD1	ί.	5		60	and	namo	UF*	Ś	ì	60	and	namo		1	5 0
ì	60	and	namo			ì	60	and	namo		{	5.		60	and	name	UE*		ì	60	and	name		{	5.0
~	60	and	name				10	and	name		{	5.		60	and	name			~	1 E	and	name		{	5.0
	63	and	name				10	and	name		{	5.		63	and	name	нD." UD*			15	and	name		{	5.0
(	63	and	name	HD"	,		10	and	name	пви	<u>,</u>	э. г	0 ( F (	63	and	name	HD"	,		12	and	name	HD"	(	5.0
(	63	and	name	HD^	(	;	03	and	name	HA	(	3.	5 (	63	and	name	HD^	(	(	03	and	name	HBI	(	3.5
(	63	and	name	HD^	)	(	03	and	name	HBZ	2	3.	5 (	63	and	name	HD^	)	(	00	and	name	HD^	)	5.0
(	63	and	name	HE ^	)	(	8	ana	name	HGI	)	5.	0 (	63	and	name	HE ^	)	(	8	and	name	HE^	)	5.0
(	63	and	name	HE*	)	(	11	and	name	HA	)	5.	0 (	63	and	name	HE*	)	(	11	and	name	HBI	)	5.0
(	63	and	name	HE*	)	(	11	and	name	HB2	)	3.	5 (	63	and	name	HE*	)	(	11	and	name	HG2	)	5.0
(	63	and	name	HE*	)	(	12	and	name	HA	)	2.	7 (	63	and	name	HE*	)	(	12	and	name	HG1	)	5.0
(	63	and	name	HE*	)	(	15	and	name	HB1	)	3.	5 (	63	and	name	HE*	)	(	15	and	name	HB2	)	5.0
(	63	and	name	HE*	)	(	15	and	name	HD*	)	5.	0 (	63	and	name	HE*	)	(	63	and	name	HA	)	5.0
(	63	and	name	HE*	)	(	63	and	name	HB1	)	5.	0 (	63	and	name	HE*	)	(	64	and	name	HA	)	5.0
(	63	and	name	ΗZ	)	(	8	and	name	HG1	)	5.	0 (	63	and	name	ΗZ	)	(	8	and	name	HE *	)	5.0
(	63	and	name	ΗZ	)	(	11	and	name	HB1	)	5.	0 (	63	and	name	ΗZ	)	(	11	and	name	HB2	)	3.5
(	63	and	name	ΗZ	)	(	12	and	name	HA	)	3.	5 (	63	and	name	ΗZ	)	(	12	and	name	HB2	)	5.0
(	63	and	name	ΗZ	)	(	12	and	name	HG1	)	5.	0 (	63	and	name	ΗZ	)	(	15	and	name	HB1	)	5.0
(	66	and	name	HD*	)	(	11	and	name	HB1	)	5.	0 (	66	and	name	HD*	)	(	11	and	name	HB2	)	3.5
(	66	and	name	HD*	)	(	53	and	name	HG2*	)	5.	0 (	66	and	name	HD*	)	(	66	and	name	HA	)	3.5
(	66	and	name	HD*	)	(	66	and	name	HB1	)	2.	7 (	66	and	name	HD*	)	(	66	and	name	HB2	)	2.7
(	66	and	name	HD*	)	(	67	and	name	HA	)	5.	0 (	66	and	name	HE*	)	(	11	and	name	HA	)	5.0
(	66	and	name	HE*	)	(	11	and	name	HB2	)	5.	0 (	69	and	name	HD*	)	(	52	and	name	HB*	)	5.0
(	69	and	name	HD*	)	(	53	and	name	HA	)	5.	0 (	69	and	name	HD*	)	(	53	and	name	HG12	)	5.0
(	69	and	name	HD*	)	(	53	and	name	HD1*	)	3.	5 (	69	and	name	HD*	)	(	69	and	name	HA	)	3.5
(	69	and	name	HD*	)	(	69	and	name	HB1	)	2.	7 (	69	and	name	HD*	)	(	69	and	name	HB2	)	2.7
Ì	69	and	name	HD*	j	Ì	77	and	name	HD1*	)	5.	0 (	69	and	name	HD*	j	Ì	77	and	name	HD2*	)	5.0
Ì	69	and	name	HE*	)	Ì	52	and	name	HB*	)	5.	0 (	69	and	name	HE*	)	(	53	and	name	HA	)	5.0
ì	69	and	name	HE*	ý	ì	53	and	name	HG11	)	5.	ò ì	69	and	name	HE*	ý	ì	53	and	name	HG12	ĵ.	5.0
ì	69	and	name	HE*	ý	ì	53	and	name	HD1*	ý	5.	0 i	69	and	name	HE*	ý	ì	69	and	name	HA	ý	5.0
ì	69	and	name	HE*	ý	ì	69	and	name	HB1	ý	5.	ō ì	69	and	name	HE*	ý	ì	69	and	name	HB2	ý	5.0
ì	69	and	name	HE*	ś	ì	76	and	name	HD2*	ś	3	5 (	69	and	name	HE*	Ś	ì	77	and	name	HD1*	ś	2 7
ì	69	and	name	нг*	ś	ì	77	and	name	нD2*	ś	3.	5 (	84	and	name	нр*	ś	ì	37	and	name	HB	ś	5 0
ì	84	and	name	ир*	ś	ì	80	and	name	НЪ	ś	5		84	and	name	HD*	ś	ì	80	and	name	HG1 *	ś	5 0
ì	84	and	namo	иD*	ś	ì	80	and	namo	UC2*	ś	5		84	and	namo	иD*	Ś	ì	Q 1	and	namo	UD*	ś	5 0
ì	84	and	namo	иD*	Ś	ì	83	and	namo	1102 UN	{	5		84	and	namo	ир*	Ś	ì	83	and	namo	UD	{	5 0
ì	01	and	nomo			ì	02	and	namo	UC11	{	5.		01	and	nomo			ì	02	and	nomo	uC2*	{	5.0
ì	01	and	namo			ì	03	and	namo		{	5.		01	and	name			ì	01	and	name	1162	{	2.0
$\frac{1}{2}$	01	and	name		,	$\hat{i}$	01	and	name	UD1	1	2.	5 ( 5 /	01	and	name	лD*		$\hat{i}$	01	and	name	110.0	{	2.5
	01	and	name	11D.			01	and	name		{	5.		04	and	name	пр. <sup>.</sup> ur*			01	and	name	11DZ	{	2.5
$\frac{1}{2}$	01	and	name	11E *		$\frac{1}{2}$	00	and	name	11A 11A	{	5.		04	and	name	11E *		$\frac{1}{2}$	01	and	nome	TIGT	{	5.0
	04	and	name	пь., пь.,	/		0 U 0 /I	and	name	пG2" ир1	1	э. Б		04	and	name	пь., пь.,	1		04	and	name	пА uco*	{	5.0
	04	and	name	11E."	,		04	and	name	пві up1*	1	5.	0 (	04	and	name	пг.,	)	l	03	and	name	пөд "	)	5.0
(	84	and	name	HE *	)	(	83	and	name	HDT ~	)	ь.	U												

## 10.5.3.4 Beschränkungen der Diederwinkel aus J-Kopplungskonstanten

(	5	and	name	С	)	(	6	and	name	Ν	)	(	б	and	name	CA	)	(	б	and	name	С	)	10	-60	20
(	6	and	name	С	)	(	7	and	name	Ν	)	(	7	and	name	CA	)	(	7	and	name	С	)	10	-60	20
(	7	and	name	С	)	(	8	and	name	Ν	)	(	8	and	name	CA	)	(	8	and	name	С	)	10	-60	20
(	8	and	name	С	)	(	9	and	name	Ν	)	(	9	and	name	CA	)	(	9	and	name	С	)	10	-60	20
(	9	and	name	С	)	( 1	0	and	name	Ν	)	(	10	and	name	CA	)	(	10	and	name	С	)	10	-60	20
(	10	and	name	С	)	( 1	.1	and	name	Ν	)	(	11	and	name	CA	)	(	11	and	name	С	)	10	-60	20
(	11	and	name	С	)	( 1	2	and	name	Ν	)	(	12	and	name	CA	)	(	12	and	name	С	)	10	-60	20
(	12	and	name	С	)	( 1	3	and	name	Ν	)	(	13	and	name	CA	)	(	13	and	name	С	)	10	-60	20
(	13	and	name	С	)	( 1	_4	and	name	Ν	)	(	14	and	name	CA	)	(	14	and	name	С	)	10	-60	20
(	15	and	name	С	)	( 1	6	and	name	Ν	)	(	16	and	name	CA	)	(	16	and	name	С	)	10	-60	20
(	16	and	name	С	)	( 1	_7	and	name	Ν	)	(	17	and	name	CA	)	(	17	and	name	С	)	10	-60	20
(	18	and	name	С	)	( 1	_9	and	name	Ν	)	(	19	and	name	CA	)	(	19	and	name	С	)	10	-60	20
(	19	and	name	С	)	( 2	20	and	name	Ν	)	(	20	and	name	CA	)	(	20	and	name	С	)	10	-60	20
(	20	and	name	С	)	( 2	21	and	name	Ν	)	(	21	and	name	CA	)	(	21	and	name	С	)	10	-120	40
(	22	and	name	С	)	( 2	23	and	name	Ν	)	(	23	and	name	CA	)	(	23	and	name	С	)	10	-120	40
(	24	and	name	С	)	( 2	25	and	name	Ν	)	(	25	and	name	CA	)	(	25	and	name	С	)	10	-120	40
(	25	and	name	C	)	( 2	26	and	name	Ν	)	(	26	and	name	CA	)	(	26	and	name	C	)	10	-120	40
(	27	and	name	C	)	( 2	28	and	name	Ν	)	(	28	and	name	CA	)	(	28	and	name	C	)	10	-60	20
(	29	and	name	C	)	( 2	30	and	name	Ν	)	(	30	and	name	CA	)	(	30	and	name	C	)	10	-60	20
(	30	and	name	C	)	( 2	31	and	name	Ν	)	(	31	and	name	CA	)	(	31	and	name	C	)	10	-60	20
(	32	and	name	C	)	( -	33	and	name	Ν	)	(	33	and	name	CA	)	(	33	and	name	C	)	10	-60	20
(	33	and	name	C	)	( 2	34	and	name	N	)	(	34	and	name	CA	)	(	34	and	name	C	)	10	-60	20
(	34	and	name	C	)	(	35	and	name	N	)	(	35	and	name	CA	)	(	35	and	name	C	)	10	-60	20
(	35	and	name	C	)	( -	56	and	name	N	)	(	30	and	name	CA	)	(	30	and	name	C	)	10	-60	20
(	36	and	name	C	)	( -	5/	and	name	N	)	(	3/	and	name	CA	)	(	3/	and	name	C	)	10	-60	20
(	40	and	name	C	)	( 4	ŧ⊥ ·	and	name	N	)	(	41	and	name	CA	)	(	41	and	name	C	)	10	-120	40
(	45	and	name	C	)	( 4	10	and	name	N	)	(	46	and	name	CA	)	(	46	and	name	C	)	10	-60	20
(	40	and	name	C	)	( 4	£/ .	and	name	N	)	(	4/	and	name	CA	)	(	4/	and	name	C	)	10	-60	20
	4/	and	name	d	,		10	and	name	IN	)	(	48	and	name	CA	)	(	48	and	name	C	,	10	-60	20
	48	and	name	d	(		19	and	name	IN NT	,	(	49	and	name	CA	)	(	49	and	name	C	,	10	-60	20
	49	and	name	d	,	( 2	- 1	and	name	IN	)	(	50	and	name	CA	)	(	50	and	name	C	,	10	-60	20
	50	and	name	d	(		± 1	and	name	IN NT	)	(	51 E 4	and	name	CA	)	(	51	and	name	C	)	10	-60	20
	23	and	name		(		94 E	and	name	NT NT	)	(	54	and	name	CA	)	(	54	and	name	d	)	10	-60	20
(	54	and	nalle	C	)	( 2	00	and	name	ΤN	)	(	55	and	name	CA	)	(	55	and	nalle	C	)	τU	-60	20

361

(	55	and	name	С	)	(	56	and	name	Ν	)	(	56	and	name	CA	)	(	56	and	name	С	)	10	-120	40
(	59	and	name	С	)	(	60	and	name	Ν	)	(	60	and	name	CA	)	(	60	and	name	С	)	10	-120	40
(	60	and	name	С	)	(	61	and	name	Ν	)	(	61	and	name	CA	)	(	61	and	name	С	)	10	-120	40
(	62	and	name	С	)	(	63	and	name	Ν	)	(	63	and	name	CA	)	(	63	and	name	С	)	10	-60	20
(	63	and	name	С	)	(	64	and	name	Ν	)	(	64	and	name	CA	)	(	64	and	name	С	)	10	-60	20
(	64	and	name	С	)	(	65	and	name	Ν	)	(	65	and	name	CA	)	(	65	and	name	С	)	10	-60	20
(	65	and	name	С	)	(	66	and	name	Ν	)	(	66	and	name	CA	)	(	66	and	name	С	)	10	-60	20
(	67	and	name	С	)	(	68	and	name	Ν	)	(	68	and	name	CA	)	(	68	and	name	С	)	10	-60	20
(	68	and	name	С	)	(	69	and	name	Ν	)	(	69	and	name	CA	)	(	69	and	name	С	)	10	-60	20
(	70	and	name	С	)	(	71	and	name	Ν	)	(	71	and	name	CA	)	(	71	and	name	С	)	10	-60	20
(	72	and	name	С	)	(	73	and	name	Ν	)	(	73	and	name	CA	)	(	73	and	name	С	)	10	-120	40
(	73	and	name	С	)	(	74	and	name	Ν	)	(	74	and	name	CA	)	(	74	and	name	С	)	10	-60	20
(	75	and	name	С	)	(	76	and	name	Ν	)	(	76	and	name	CA	)	(	76	and	name	С	)	10	-60	20
(	77	and	name	С	)	(	78	and	name	Ν	)	(	78	and	name	CA	)	(	78	and	name	С	)	10	-60	20
(	80	and	name	С	)	(	81	and	name	Ν	)	(	81	and	name	CA	)	(	81	and	name	С	)	10	-60	20
(	83	and	name	С	)	(	84	and	name	Ν	)	(	84	and	name	CA	)	(	84	and	name	С	)	10	-120	40

## 10.5.3.5 Abstandsbeschränkungen aus der Identifizierung von Wasserstoffbrücken

(	15	and	name	HN	)	(	11	and	name	0	)	2.3	(	15	and	name	Ν	)	(	11	and	name	0	)	3.3
(	16	and	name	HN	)	(	12	and	name	0	)	2.3	(	16	and	name	Ν	)	(	12	and	name	0	)	3.3
(	17	and	name	HN	)	(	13	and	name	0	)	2.3	(	17	and	name	Ν	)	(	13	and	name	0	)	3.3
(	18	and	name	HN	)	(	14	and	name	0	)	2.3	(	18	and	name	Ν	)	(	14	and	name	0	)	3.3
(	24	and	name	HN	)	(	19	and	name	OD2	)	2.3	(	24	and	name	Ν	)	(	19	and	name	OD2	)	3.3
(	26	and	name	HN	)	(	61	and	name	0	)	2.3	(	26	and	name	Ν	)	(	61	and	name	0	)	3.3
(	31	and	name	HN	)	(	27	and	name	0	)	2.3	(	31	and	name	Ν	)	(	27	and	name	0	)	3.3
(	32	and	name	HN	)	(	28	and	name	0	)	2.3	(	32	and	name	Ν	)	(	28	and	name	0	)	3.3
(	33	and	name	HN	)	(	29	and	name	0	)	2.3	(	33	and	name	Ν	)	(	29	and	name	0	)	3.3
(	34	and	name	HN	)	(	30	and	name	0	)	2.3	(	34	and	name	Ν	)	(	30	and	name	0	)	3.3
(	35	and	name	HN	)	(	31	and	name	0	)	2.3	(	35	and	name	Ν	)	(	31	and	name	0	)	3.3
Ì	47	and	name	HN	j	Ċ	43	and	name	0	)	2.3	Ì	47	and	name	Ν	)	Ì	43	and	name	0	)	3.3
(	49	and	name	HN	)	(	45	and	name	0	)	2.3	Ì	49	and	name	Ν	)	(	45	and	name	0	)	3.3
Ì	50	and	name	HN	j	Ċ	46	and	name	0	)	2.3	Ì	50	and	name	Ν	)	Ì	46	and	name	0	)	3.3
(	51	and	name	HN	)	(	47	and	name	0	)	2.3	Ì	51	and	name	Ν	)	(	47	and	name	0	)	3.3
Ì	52	and	name	HN	j	Ċ	48	and	name	0	)	2.3	Ì	52	and	name	Ν	)	Ì	48	and	name	0	)	3.3
(	53	and	name	HN	)	Ċ	49	and	name	0	)	2.3	Ì	53	and	name	Ν	)	Ì	49	and	name	0	)	3.3
Ì	54	and	name	HN	ý	Ì	50	and	name	0	ĵ.	2.3	Ì	54	and	name	Ν	ý	ì	50	and	name	0	ĵ.	3.3
(	59	and	name	HN	)	Ċ	54	and	name	OD2	)	2.3	Ì	59	and	name	Ν	)	Ì	54	and	name	OD2	)	3.3
Ì	61	and	name	HN	ý	Ì	26	and	name	0	ĵ.	2.3	Ì	61	and	name	Ν	ý	ì	26	and	name	0	ĵ.	3.3
(	66	and	name	HN	ý	Ì	62	and	name	0	)	2.3	ì	66	and	name	Ν	)	(	62	and	name	0	)	3.3
ì	67	and	name	HN	ý	ì	63	and	name	Ō	ý	2.3	ì	67	and	name	Ν	ý	ì	63	and	name	Ō	ý	3.3
					,	•							•											,	

## 10.5.3.6 Dipolare Kopplungskonstanten

(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y un	)	(500 and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	7	)	(500	and	name	V	)	(500 and	name	v	)
( 500	ana	manic	00	,	(10)	and	name	N	í	(10)	and	name	HN	ś	-15.65	0.30	21	
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	ý	(500	and	name	Y	ý	(500 and	name	x	)
( 5 6 6	ana	1101110	00	'	( 11	and	name	N	ý	( 11	and	name	ΗN	ý	-15.96	0.44		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	ý	(500	and	name	Y	ý	(500 and	name	Х	)
				,	(12	and	name	Ν	ý	( 12	and	name	HN	ý	-25.46	0.36		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					(13	and	name	Ν	)	(13	and	name	HN	)	-22.60	0.50		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 14	and	name	Ν	)	( 14	and	name	HN	)	-15.00	0.33		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
					( 15	and	name	Ν	)	( 15	and	name	HN	)	-21.02	0.47		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
	_				( 17	and	name	Ν	)	( 17	and	name	HN	)	-16.44	0.35		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
	-				( 20	and	name	N	)	( 20	and	name	HN	)	2.25	0.30		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
( = 0.0	-		~ ~	,	( 21	and	name	N	)	( 21	and	name	HN	)	9.97	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	Х	)
(			~~	,	( 22	and	name	N	)	( 22	and	name	HN	)	3.24	0.30		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	)	(500	and	name	Y	)	(500 and	name	X	)
(			~~	,	( 23	and	name	N	)	( 23	and	name	HN	)	1.34	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z NT	)	(500)	and	name	1 TINT	)	(500 and	name	X	)
( = 0.0	and		00	`	( 24	and	name	11	,	( 24	and	name	MIN	)	19.03	0.51	v	、
(500	anu	Itallie	00	)	( 25	and	name	ы М		( 25	and	name	LINT		(500 and	0 20	Λ	,
( 500	and	nomo	00	)		and	name	11			and	name	V	)	(E00 and	0.30	v	``
(500	anu	Itallie	00	)	( 26	and	name	N	)	( 26	and	name	HN	)	5 09	0 30	Λ	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	7	)	(500	and	name	V	)	(500 and	name	v	)
( 500	ana	manic	00	,	( 27	and	name	N	Ś	( 27	and	name	HN	Ś	13 93	0 32	21	
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	í	(500	and	name	v	ý	(500 and	name	x	)
( 500	ana	manic	00	,	(28	and	name	N	í	( 28	and	name	HN	ś	7.74	0.30	21	
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	í	(500	and	name	Y	ý	(500 and	name	х	)
, 200				,	( 29	and	name	N	ý	( 29	and	name	HN	ý	7.81	0.41		
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	ý	(500	and	name	Y	ý	(500 and	name	Х	)
				,	( 31	and	name	Ν	ý	( 31	and	name	HN	ý	11.70	0.30		

						-					-								
(500	and	name	00	)	(500)	and	name	Z	) (	500	and	name	Y un	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
( = 0.0	and		00	`	(33	and	name	N	) (	33	and	name	HN	)	12.	49	0.34	v	,
(500	anu	nalle	00	)	(34	and	name	L N	) (	34	and	name	1 HN	)	18.	51	0.36	Λ	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	) (	500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(35)	and and	name	N Z	) (	35	and and	name	HN Y	)	(500	46 and	0.31 name	х	)
					( 36	and	name	N	) (	36	and	name	HN	ý	3.	99	0.31		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z N	) (	500	and	name	Y HN	)	(500	and 21	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
(500	and	nomo	00	)	(38	and	name	N 7	) (	38	and	name	HN V	)	10.	34 2nd	0.32	v	,
( 500	anu	name	00	)	( 42	and	name	N	) (	42	and	name	HN	)	-3.	06	0.41	Λ	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(	1		~~	,	(45	and	name	N	) (	45	and	name	HN	)	15.	49	0.32	v	,
(500	and	name	00	)	( 47	and	name	Z N	) (	47	and	name	1 HN	)	(500	23	0.37	Å	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	( 48	and and	name	N Z	) (	48	and and	name	HN Y	)	(500	43 and	0.48 name	х	)
				, ,	( 50	and	name	N	) (	50	and	name	HN	ý	-2.	33	0.30		, ,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z N	) (	500	and	name	Y HN	)	(500	and	name 0 31	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and and	name	N Z	) (	500	and and	name	HN V	)	17.	17 and	0.33	v	)
( 500	ana	manic	00	,	(53)	and	name	N	) (	53	and	name	HN	)	-4.	06	0.32	21	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Υ	)	(500	and	name	Х	)
(	1		~~	,	(56	and	name	N	) (	56	and	name	HN	)	13.	16	0.37	v	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z N	) (	500	and	name	1 HN	)	(500	89	0.31	Å	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(58)	and and	name	N Z	) (	500	and and	name	HN Y	)	(500	3/ and	0.33 name	х	)
				, ,	( 59	and	name	N	) (	59	and	name	HN	ý	-9.	06	0.31		, ,
(500	and	name	00	)	(500	and and	name	Z N	) (	500	and and	name	Y HN	)	(500	and 80	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(61	and	name	N Z	) (	61 500	and	name	HN Y	)	14.	19 and	0.31 name	x	)
(500			00	,	( 62	and	name	N	) (	62	and	name	HN	ý	13.	14	0.34		,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z N	) (	500	and	name	Y HN	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(64	and and	name	N Z	) (	64 500	and and	name	HN V	)	-3.	85 and	0.33	v	)
( 500	ana	manic	00	,	( 66	and	name	N	) (	66	and	name	HN	)	0.	26	0.30	21	,
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y un	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	nomo	00	)	(69	and	name	N 7	) (	69	and	name	HN V	)	-3.	39 2nd	0.45	v	,
(500	anu	name	00	)	(70)	and	name	N	) (	70	and	name	HN	)	3.	67	0.35	Λ	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(			00		(72	and	name	N	) (	72	and	name	HN	)	-10.	62	0.34		,
(500	and	name	00	)	(500	and and	name	Z N	) (	500	and and	name	Y HN	)	(500	and 29	name 0.40	X	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	( 74	and and	name	N Z	) (	500	and and	name	HN Y	)	(500	/4 and	0.45 name	х	)
				, ,	(75	and	name	N	) (	75	and	name	HN	ý	12.	71	0.31		, ,
(500	and	name	00	)	(500	and and	name	Z N	) (	500	and and	name	Y HN	)	(500	and 21	name 0.48	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Ζ	) (	500	and	name	Y	ý	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(77)	and and	name name	N Z	) (	500	and and	name name	HN Y	)	10. (500	68 and	U.35 name	x	)
					(78	and	name	N	) (	78	and	name	HN	)	10.	03	0.48		
(500	and	name	00	)	(500	and and	name name	Z N	) (	500	and and	name name	Y HN	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(500	and	name	Z	) (	500	and	name	Y	)	(500	and	name	Х	)
(500	and	name	00	)	(81	and and	name name	N Z	) (	81 500	and and	name name	HN Y	)	6.	12 and	0.31 name	x	)
, 500	una				( 82	and	name	N	) (	82	and	name	ΗN	)	7.	70	0.40		,
(500	and	name	00	)	(500)	and	name	Z N	) (	500	and and	name	Y HN	)	(500	and	name	Х	)
					, 00	JULL	TTOULG	± ¥		00	JULL	TTOULG	<b>-</b> N	/	±/.	<i>.</i> .	J. J. T.		

# 10.5.3.7 Chemische Verschiebungen der ${}^{13}C\alpha$ - und ${}^{13}C\beta$ -Kerne

(	1	and	name	С	)	(2) (3)	and and	name name	N N	)	( 2	2 and 14 41	name	CA	)	(	2	and	name	С	)
(	2	and	name	С	)	( 3	and	name	N	ý	( 3	and	name	CA	)	(	3	and	name	С	)
(	3	and	name	С	)	(4)	and and	name name	N N	)	54. ( 4	10 41 1 and	name	CA	)	(	4	and	name	С	)
(	4	and	name	С	)	(5)	and	name	N N	)	55.	71 28 5 and	.36	CA	)	(	5	and	name	C	)
,	_	ana	manic	-	,	(6	and	name	N	)	64.6	54 32	.20		,	,	-	unu	name	-	,
(	5	and	name	С	)	(6 (7	and and	name name	N N	)	( 6	o and 34 28	.81	CA	)	(	6	and	name	C	)
(	6	and	name	С	)	(7	and	name	N	) )	(	and	name	CA	)	(	7	and	name	C	)
(	7	and	name	С	)	(8	and	name	N	)	( 8	and 3	name	CA	)	(	8	and	name	С	)
(	8	and	name	С	)	(9 (9	and and	name name	N N	)	60.1	14 32 ) and	.82 name	CA	)	(	9	and	name	С	)
ì	0	and		a	,	(10)	and	name	N	) )	54.9	96 18	.10	C D	, \	ì	1.0	and		a	Ś
(	9	anu	name	C	)	( 11	and	name	N	)	59.1	L0 29	.52	CA	,	(	ΤŪ	anu	name	C	,
(	10	and	name	С	)	(11 (12	and and	name name	N N	)	(11	l and 51 30	name .80	CA	)	(	11	and	name	С	)
(	11	and	name	С	)	(12)	and	name	N	)	( 12	and	name	CA	)	(	12	and	name	С	)
(	12	and	name	С	)	(13)	and	name	N	)	( 13	35 29 8 and	name	CA	)	(	13	and	name	С	)
(	13	and	name	С	)	(14)	and and	name name	N N	)	59.9	93 30 1 and	.60 name	CA	)	(	14	and	name	С	)
,	14			c	,	(15	and	name	N	ý	65.0	01 38	.38	<u></u>	, ,	,	1 5			a	,
(	14	and	name	Ċ	)	(15)	and and	name name	N N	)	62.6	5 and 59 39	.80	ĊA	)	(	15	and	name	C	)
(	15	and	name	С	)	(16	and	name	N N	)	(16	5 and	name 81	CA	)	(	16	and	name	С	)
(	16	and	name	С	)	(17	and	name	N	)	( 17	and	name	CA	)	(	17	and	name	С	)
(	17	and	name	С	)	(18 (18	and and	name name	N N	)	57.3	75 29 3 and	.32 name	CA	)	(	18	and	name	С	)
(	1.9	and	ກລາກດ	C	)	(19	and	name	N N	)	58.	78 39 and	.53	CA	)	(	10	and	ກລາກດ	C	)
(	10	ana	manie	C	,	( 20	and	name	N	)	52.5	56 38	.56	CA	,		1)	ana	manie	C	,
(	19	and	name	С	)	(20) (21)	and and	name name	N N	)	(20	) and 27 19	name .71	CA	)	(	20	and	name	С	)
(	20	and	name	С	)	(21)	and	name	N	)	(21	and	name	CA	)	(	21	and	name	С	)
(	22	and	name	С	)	(22)	and	name	N	)	( 23	and 3	name	CA	)	(	23	and	name	С	)
(	24	and	name	С	)	(24 (25	and and	name name	N N	)	53.5	53 40 5 and	.38 name	CA	)	(	25	and	name	С	)
ì	25	and		a	,	(26	and	name	N	) )	54.2	28 36	.29	C D	, \	ì	26	and		a	, ,
(	20	anu	name	C	)	(20)	and	name	N	)	60.0	)4 39	.36	CA	,	(	20	anu	name	C	,
(	26	and	name	С	)	(27 (28	and and	name name	N N	)	(21)	7 and 12 66	name .38	CA	)	(	27	and	name	С	)
(	27	and	name	С	)	(28	and	name	N	)	(28	and	name	CA	)	(	28	and	name	С	)
(	28	and	name	С	)	(29)	and	name	N	)	( 29	and	name	CA	)	(	29	and	name	С	)
(	29	and	name	С	)	(30) (30)	and and	name name	N N	)	54.9	98 18 ) and	.26 name	CA	)	(	30	and	name	С	)
ì	20	and		a	,	(31	and	name	N	)	58.6	59 29	.48	C D	, \	ì	21	and		a	, ,
(	50	and	name	C	)	( 32	and	name	N	)	58.3	35 41	.63	CA	)	(	51	anu	name	C	,
(	32	and	name	С	)	(33 (34	and and	name name	N N	)	(33	3 and 31 29	name	CA	)	(	33	and	name	С	)
(	33	and	name	С	)	(34	and	name	N	ý	(34	and	name	CA	)	(	34	and	name	С	)
(	34	and	name	С	)	(35)	and	name	N	)	( 35	5 and	name	CA	)	(	35	and	name	С	)
(	35	and	name	С	)	(36 (36	and and	name name	N N	)	57.0	)3 41 5 and	.36 name	CA	)	(	36	and	name	С	)
,	26	and	n	C	,	(37	and	name	N	) )	59.0	)8 32	.41	CA	,	,	27	and		C	,
(	30	and	name	C	)	(38	and	name	N	)	64.3	30 69	.28	CA	)	(	57	anu	name	C	)
(	37	and	name	С	)	(38 (39	and and	name name	N N	)	(38	3 and 33 42	name .47	CA	)	(	38	and	name	С	)
(	39	and	name	С	)	(40 (41	and	name	N	)	(4(	) and	name	CA	)	(	40	and	name	С	)
(	40	and	name	С	)	( 41	and	name	N	)	( 41	and	name	CA	)	(	41	and	name	С	)
(	41	and	name	С	)	(42 (42	and and	name name	N N	)	59.0	72 40 2 and	.00 name	CA	)	(	42	and	name	С	)
ì	10	and	2000	c	,	(43	and	name	N	) )	61.7	77 69	.07	C N	, \	ì	10	and	nome	C	,
(	4∠	and	naille	C	)	(43)	and	name	N	)	65.8	31 31	.91	CA	)	(	43	and	naille	C	)
(	43	and	name	С	)	(44 (45	and and	name name	N N	)	(44 57.1	1 and 10 40	name	CA	)	(	44	and	name	C	)
(	44	and	name	С	)	(45	and	name	N	ý	(45	and	name	CA	)	(	45	and	name	С	)
(	45	and	name	С	)	(46)	and	name	N	)	59.0 (46	5 and	.∠¤ name	CA	)	(	46	and	name	С	)
(	46	and	name	С	)	(47 (47	and and	name name	N N	)	67.4 (47	12 31 7 and	.51 name	CA	)	(	47	and	name	С	)
ì	47	and	name	Ċ	, ,	(48	and	name	N N	) )	59.9	90 32	.40	CA	, N	ì	40	and	name	C	,
(	ч <i>1</i>	and	name	C	)	(49	and	name	N	)	58.6	51 28	.24	CA	,	(	то	and	name	C	)

(	48	and	name	С	)	(	49 50	and	name	N N	)	(49 and	name 68	CA	)	(	49	and	name	С	)
(	49	and	name	С	)	(	50	and	name	N	)	( 50 and	name	CA	)	(	50	and	name	С	)
(	50	and	name	С	)	(	51	and	name	N	)	(51 and	name	CA	)	(	51	and	name	С	)
(	51	and	name	С	)	(	52	and	name	N	)	( 52 and	name	CA	)	(	52	and	name	С	)
(	52	and	name	С	)	(	53	and	name name	N N	)	( 53 and	.65 name	CA	)	(	53	and	name	С	)
(	53	and	name	С	)	(	54 54	and and	name name	N N	)	63.36 39 (54 and	.33 name	CA	)	(	54	and	name	С	)
(	54	and	name	С	)	(	55 55	and and	name name	N N	)	53.15 39 ( 55 and	.58 name	CA	)	(	55	and	name	С	)
(	55	and	name	С	)	(	56 56	and and	name name	N N	)	64.91 69 ( 56 and	.22 name	CA	)	(	56	and	name	С	)
(	57	and	name	С	)	(	57 58	and and	name name	N N	)	53.53 39 ( 58 and	.76 name	CA	)	(	58	and	name	С	)
(	59	and	name	С	)	(	59 60	and and	name name	N N	) )	54.06 40 ( 60 and	.51 name	CA	)	(	60	and	name	С	)
(	60	and	name	С	)	(	61 61	and and	name name	N N	)	55.80 44 ( 61 and	.30 name	CA	)	(	61	and	name	С	)
(	61	and	name	С	)	(	62 62	and and	name name	N N	)	60.34 39 ( 62 and	.71 name	CA	)	(	62	and	name	С	)
(	62	and	name	С	)	(	63 63	and and	name name	N N	)	56.67 66 ( 63 and	.04 name	CA	)	(	63	and	name	С	)
(	63	and	name	С	)	(	64 64	and and	name name	N N	)	62.24 38 ( 64 and	.33 name	CA	)	(	64	and	name	С	)
(	64	and	name	С	)	(	65 65	and and	name name	N N	)	59.29 28 ( 65 and	.49 name	CA	)	(	65	and	name	С	)
(	65	and	name	С	)	Ì	66 66	and and	name	N N	)	59.11 29	.27 name	CA	)	(	66	and	name	C	)
í	66	and	name	C	)	(	67 67	and	name	N N	)	61.88 40	.33	CA	, )	(	67	and	name	C	, )
í	67	and	name	C	,	(	68 68	and	name	N N	)	66.65 68	.82	CA	)	í	68	and	name	c	)
(	68	and	name	C	,	(	69 69	and	name	N	)	57.19 39	.90	CA	)	(	60	and	name	c	)
(	70	anu	name	C	)	(	70	and	name	N	)	60.82 39	.54	CA	,	(	09	anu	name	c	,
(	70	and	name	C a	)	(	72	and	name	N	)	58.26 30	.31	CA	)	(	/1	and	name	c	)
(	71	and	name	C	)	(	72	and	name name	N N	)	(72 and 52.66 19	name .59	CA	)	(	72	and	name	C	)
(	72	and	name	С	)	(	74	and and	name name	N N	)	(73 and 52.58 39	name.00	CA	)	(	-73	and	name	C	)
(	73	and	name	С	)	(	74 75	and and	name name	N N	)	( 74 and 58.14 30	name .32	CA	)	(	74	and	name	С	)
(	75	and	name	С	)	(	76 77	and and	name name	N N	)	( 76 and 56.81 42	name .39	CA	)	(	76	and	name	С	)
(	76	and	name	С	)	(	77 78	and and	name name	N N	)	( 77 and 56.22 41	name .32	CA	)	(	77	and	name	С	)
(	77	and	name	С	)	(	78 79	and and	name name	N N	) )	( 78 and 58.61 32	name .34	CA	)	(	78	and	name	С	)
(	78	and	name	С	)	(	79 80	and and	name name	N N	)	( 79 and 56.00 40	name .19	CA	)	(	79	and	name	С	)
(	79	and	name	С	)	(	80 81	and and	name name	N N	)	( 80 and 64.42 32	name .24	CA	)	(	80	and	name	С	)
(	80	and	name	С	)	( (	81 82	and and	name name	N N	)	( 81 and 53.55 19	name .05	CA	)	(	81	and	name	С	)
(	81	and	name	С	)	Ì	82 83	and and	name name	N N	)	(82 and 57.49 32	name	CA	)	(	82	and	name	С	)
(	82	and	name	С	)	( (	83 84	and and	name	N N	, ) )	(83 and 61.95 39	name .31	CA	)	(	83	and	name	С	)
						``					,										

## 10.5.4 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen von Bet v 1 und Pru av 1 wt mit Steroiden

(	5	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	19.0	(	6	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	19.0
(	7	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	19.0	(	22	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	19.0
(	26	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	20.0	(	27	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	22.0
(	29	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	22.0	(	30	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	19.0
(	34	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	23.0	(	37	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	19.0
(	58	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	20.0	(	60	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	23.0
(	61	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	25.0	(	63	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	27.0
(	64	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	25.0	(	65	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	22.0
(	66	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	20.0	(	88	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	18.0
(	89	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	20.0	(	90	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	18.0
(	91	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	19.0	( )	100	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	15.0
(1	101	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	17.0	( )	116	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	17.0
(1	117	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	17.0	( )	118	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	15.0
(1	133	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	17.0	( )	135	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	18.0
(1	136	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	14.0	( )	137	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	16.0
(1	139	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	15.0	( )	140	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	13.0
(1	143	and	name	CA	)	(608	and	name	C8	)	16.0												

### 10.5.5 Abstandsbeschränkungen für die Modellierung der Komplexstrukturen von

#### Bet v 1 und Pru av 1 wt mit PtdCho

(	(5	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	26.0	(	6	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	24.0
(	(7	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	24.0	(	22	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	12.0
(	26	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	12.0	(	27	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	15.0
(	(29	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	16.0	(	30	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	17.0
(	34	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	23.0	(	37	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	23.0
(	58	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	23.0	(	60	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	28.0
(	61	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	30.0	(	63	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	32.0
(	64	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	29.0	(	65	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	26.0
(	66	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	23.0	(	88	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	24.0
(	(89	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	27.0	(	90	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	26.0
(	91	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	27.0	(	100	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	17.0
(	(101	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	17.0	(	116	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	20.0
(	(117	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	21.0	(	118	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	21.0
(	(133	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	27.0	(	135	and	name	CA	)	(501	and	name	Ν	)	27.0
(	(136	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	23.0	(	137	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	24.0
(	(139	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	23.0	(	140	and	name	CA	)	(501	and	name	N	)	20.0
(	(143	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ν	)	19.0	(	5	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	21.0
(	( 6	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ρ	)	20.0	(	7	and	name	CA	)	(501	and	name	Ρ	)	20.0
(	(22	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ρ	)	15.0	(	26	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	16.0
(	27	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ρ	)	19.0	(	29	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	19.0
(	( 30	and	name	CA	. )		(501	and	name	Р	)	18.0	(	34	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	23.0
(	37	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ρ	)	22.0	(	58	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	23.0
(	60	and	name	CA	)		(501	and	name	Ρ	)	27.0	(	61	and	name	CA	)	(501	and	name	Ρ	)	29.0
(	63	and	name	CA	)		(501	and	name	Ρ	)	31.0	(	64	and	name	CA	)	(501	and	name	Ρ	)	29.0
(	65	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ρ	)	25.0	(	66	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	22.0
(	88	and	name	CA	. )		(501	and	name	P	)	22.0	(	89	and	name	CA	)	(501	and	name	P	)	25.0
(	90	and	name	CA	. )		(501	and	name	Р	)	23.0	(	91	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	23.0
(	100	and	name	CA	. )		(501	and	name	P	)	14.0	(	101	and	name	CA	)	(501	and	name	P	)	14.0
(	116	and	name	CA	. )		(501	and	name	P	)	16.0	(	117	and	name	CA	)	(501	and	name	P	)	17.0
(	118	and	name	CA	. )		(501	and	name	Р	)	16.0	(	133	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	22.0
(	135	and	name	CA	. )		(501	and	name	P	)	23.0	(	136	and	name	CA	)	(501	and	name	P	)	19.0
(	137	and	name	CA	. )		(501	and	name	Ъ	)	20.0	(	139	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	19.0
(	140	and	name	CA	. )	1	(501)	and	name	Р	)	16.0	(	143	and	name	CA	)	(501	and	name	Р	)	T.1.0

## 10.6 Topologie-, Parameter- und Protokolldateien für X-PLOR

#### 10.6.1 Topologiedatei topallhdg.hs

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

### 10.6.2 Topologiedatei topo.ca2+

```
!@tophcsdx.pro
                                                                 {*Append the metal cluster*}
{*topology. *}
autogenerate angles=true end
autogenerate DIHEDRAL=true end
mass OCX1 15.999
mass OCX2 15.999
mass OCX3 15.999
mass OCX4 15.999
mass OCX5 15.999
mass OCX6 15.999
mass OCX7
             15.999
mass CA2
             40.080
resid CL1
     group
          atom CA2 type CA2 charge 2.0
     end
end
resid CL2
     atom CA2 type CA2 charge 2.0 end
    group
end
```

### 10.6.3 Parameterdatei parallhdg\_min.pn

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

## 10.6.4 Parameterdatei parameter.ca2+

REMARKS	file: TOPPAR/parameter.elements
REMARKS	Nonbonded parameters for some elements.
REMARKS	Reference: program QUANTA, Molecular Simulations Inc.

set echo=false end

BOND         C         OCX1           BOND         C         OCX2           BOND         C         OCX3           BOND         C         OCX4           BOND         C         OCX5           BOND         C         OCX6           BOND         C         OCX7           BOND         OCX1         CA2           BOND         OCX2         CA2           BOND         OCX3         CA2           BOND         OCX4         CA2           BOND         OCX5         CA2           BOND         OCX6         CA2           BOND         OCX7         CA2	$1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\1000.0\\$	$\begin{array}{c} 1.220\\ 1.215\\ 1.220\\ 1.215\\ 1.220\\ 1.220\\ 1.220\\ 2.317\\ 2.376\\ 2.274\\ 2.104\\ 2.454\\ 2.458\\ 2.376\\ \end{array}$	l origina l origina l origina l origina l origina l origina l origina l Nobs = l Nobs = l Nobs = l Nobs = l Nobs =	l type C l type C 4 2 4 4 4 4 4 2	0C 0 0C 0C 0C 0C		
ANGLECTCANGLECCCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLECTCANGLEOCXCANGLEOCXCAANGLEOCX1CA2ANGLEOCX1CA2ANGLEOCX2CA2ANGLEOCX2CA2ANGLEOCX2CA2ANGLEOCX2CA2ANGLEOCX3CA2ANGLEOCX3CA2ANGLEOCX4CA2ANGLEOCX4CA2ANGLEOCX5CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7CA2ANGLEOCX7<	0CX1 0CX1 0CX2 0CX3 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX6 0CX7 0CX7 0CX7 0CX7 0CX2 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX5 0CX6 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX6 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX7 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX7 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX6 0CX6 0CX7 0CX7 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX6 0CX7 0CX7 0CX2 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX7 0CX7 0CX2 0CX3 0CX4 0CX5 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6 0CX6	500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 500.0 5	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	original original original original original original original original original original original original Nobs = Nobs =	type CT type CC type CC type CC type OC 2 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	00000000000	0C 0C 0C 0C 0C 0C 0C 0C 0C 0C 0C 0C 0C 0
IMPRoper C X IMPRoper C X IMPRoper C X IMPRoper C X IMPRoper OCX4 C IMPRoper C X IMPRoper C X IMPRoper C X IMPRoper CA2 00 IMPRoper CA2 00	X X X NH1 X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	OCX1 OCX2 OCX3 OCX4 CT OCX5 OCX6 OCX7 OCX3 OCX4 OCX2 OCX6 OCX2 OCX6 OCX2 OCX6 OCX2 OCX1 OCX1 OCX1 OCX1 OCX1 OCX1 OCX1 OCX1	$\begin{array}{cccccc} 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 & 0 \\ 750.0 $	$\begin{array}{c} 0.000\\ 0.000\\ 0.000\\ 0.000\\ 0.000\\ 0.000\\ 0.000\\ 60.000\\ 60.000\\ 52.800\\ 81.300\\ 66.600\\ 57.500\\ 2.400\\ 60.000\\ 63.000\\ -10.000\\ 60.000\\ 13.300\\ 48.500 \end{array}$	<pre>! original ! original ! original ! original ! original ! original ! original ! nobs = ! Nobs =</pre>	type type type type type type 2 4 2 2 2 2 4 4	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

IMPRoper CA2 OCX IMPRoper CA2 OCX	5         OCX1         OCX4         750           5         OCX4         OCX6         750           5         OCX1         OCX5         750           6         OCX5         OCX2         750           6         OCX5         OCX2         750           6         OCX5         OCX2         750           1         OCX6         OCX3         750           1         OCX6         OCX7         750           7         OCX1         OCX6         750           7         OCX3         OCX1         750           3         OCX1         OCX7         750           3         OCX1         OCX7         750           5         OCX7         OCX3         750           6         OCX7         OCX4         750           6         OCX7         OCX4         750	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	<pre>! Nobs = ! Nobs = </pre>	4 Value = 4 Value = 4 Value = 2 Value =	67.1 -18.6 39.4 60.0 7.6 52.0 58.9 65.6 57.0 64.1 -10.0 7.6 52.0
- ! !	eps sigma (kcal/mol) (A)	eps(1:4) s	igma(1:4)		
NONBonded OCX1 NONBonded OCX2 NONBonded OCX3 NONBonded OCX4 NONBonded OCX5 NONBonded OCX5 NONBonded OCX7 NONBonded OCX7 NONBonded CA2	$\begin{array}{c} 1.0244\ 2.7755\\ 0.2342\ 2.7755\\ 1.0244\ 2.7755\\ 0.2342\ 2.7755\\ 1.0244\ 2.7755\\ 1.0244\ 2.7755\\ 1.0244\ 2.7755\\ 1.0244\ 2.7755\\ 0.0600\ 3.1070\\ \end{array}$	$\begin{array}{c} 1.0244 & 2.7\\ 0.2342 & 2.7\\ 1.0244 & 2.7\\ 0.2342 & 2.7\\ 1.0244 & 2.7\\ 1.0244 & 2.7\\ 1.0244 & 2.7\\ 1.0244 & 2.7\\ 0.0600 & 3.1 \end{array}$	755 ! origi 755 ! origi 755 ! origi 755 ! origi 755 ! origi 755 ! origi 755 ! origi	nal type OC nal type O nal type OC nal type OC nal type OC nal type OC nal type OC	

set echo=true end

#### 10.6.5 Protokolldatei generate\_structure.inp

```
! generiert structure-output fuer coordinaten-generation
topology
@../topallhdg.hs
 parameter
                                                     @../parallhdg_min.pn
 end
 segment
                                                    name=""
                                                      chain
                                                      @../toph19.pep
                                                                                                       link pep
link pept head - * tail + * end
first prop tail + pro end
first nter tail + * end
last cter head - * end
sequence @hcc2_seq end
end
first of a content of a cont
   !
   !
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   ! special n-ter for PRO
   1
   1
   !
                                                                                                        coordinates @../betv4g70_model.pdb
                                                    end
 end
    !patch DISU
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   {*cluster and the protein. *}
                               reference=1=( resid 31 )
reference=2=( resid 60 )
   1
   !end
 write structure output=../betv4g70.psf end
 stop
```

#### 10.6.6 Protokolldatei generate\_ca2+.inp

stop

#### 10.6.7 Protokolldatei make\_cluster.inp

```
file nmr/generate_template.inp
remarks
remarks generates a "template" coordinate set. This produces
remarks an arbitrary extended conformation with ideal geometry.
remarks author: Axel T. Brunger
{===>}
structure @../betv4g70.psf end
                                                            {* read structure file *}
structure @../cluster/ca2+.psf end
parameter
{===>}
@../parallhdg_min.pn
                                                             {* read parameters *}
    @../parameter.ca2+
end
coordinates @../betv4g70_model_min.pdb end
coordinates @../cluster/ca2+.pdb end
topology
    @../topallhdg.hs
    @../topo.ca2+
   presidue PCA1
       modify atom 10D1 type=OCX1 charge=-0.62 end
modify atom 20D1 type=OCX2 charge=-0.48 end
       modify atom 30D1 type=OCX3 charge=-0.62 end
       modify atom 50E1 type=OCX4 charge=-0.48 end
modify atom 50E1 type=OCX5 charge=-0.62 end
modify atom 50E2 type=OCX6 charge=-0.62 end
        add bond 10D1 6CA2
        add bond 20D1 6CA2
        add bond 30D1 6CA2
        add bond 40
                        6CA2
        add bond 50E1 6CA2
        add bond 50E2 6CA2
       add angle 10D1 6CA2 20D1 add angle 10D1 6CA2 30D1
        add angle 10D1 6CA2 40
       add angle 10D1 6CA2 50E1 add angle 10D1 6CA2 50E2
        add angle 20D1 6CA2 30D1
        add angle 20D1 6CA2 40
       add angle 20D1 6CA2 50E1 add angle 20D1 6CA2 50E2
        add angle 30D1 6CA2 40
        add angle 30D1 6CA2 50E1
       add angle 30D1 6CA2 50E2
add angle 40 6CA2 50E1
add angle 40 6CA2 50E2
        add angle 50E1 6CA2 50E2
       add improper 6CA2 10D1 20D1 30D1
add improper 6CA2 10D1 30D1 40
        add improper 6CA2
                              10D1 40
                                           50E1
        add improper 6CA2 10D1 50E1 50E2
                              10D1 50E2
        add improper 6CA2
                                           20D1
        add improper 6CA2
                              20D1 10D1
                                           50E2
        add improper 6CA2 20D1 50E2 30D1
        add improper 6CA2
                              20D1 30D1 10D1
        add improper 6CA2
                              30D1 10D1 20D1
        add improper 6CA2
                                     20D1 40
                              30D1
        add improper 6CA2
                              30D1
                                     40
                                           10D1
                                     1001 3001
        add improper 6CA2 40
        add improper 6CA2 40
                                     30D1 50E1
        add improper 6CA2 40
                                     50E1 10D1
        add improper 6CA2 50E1 10D1 40
                              50E1 40
                                           50E2
        add improper 6CA2
        add improper 6CA2 50E1 50E2 10D1
        add improper 6CA2 50E2
                                    10D1 50E1
        add improper 6CA2 50E2 50E1
                                           20D1
       add improper 6CA2 50E2 20D1 10D1
    end
    presidue PCA2
       modify atom 10D1 type=OCX1 charge=-0.62 end
       modify atom 20D1 type=OCX7 charge=-0.62 end
       modify atom 30D1 type=OCX3 charge=-0.62 end
       modify atom 40 type=0CX4 charge=-0.48 end
modify atom 50E1 type=0CX5 charge=-0.62 end
```

modify atom 50E2 type=OCX6 charge=-0.62 end

10. Anhang

```
add bond 10D1 6CA2
       add bond 20D1 6CA2
       add bond 30D1 6CA2
       add bond 40
                         6CA2
        add bond 50E1 6CA2
       add bond 50E2 6CA2
        add angle 10D1 6CA2 20D1
        add angle 10D1 6CA2
                                 30D1
       add angle 10D1 6CA2
                                 40
                          6CA2
       add angle 10D1
                                 50E1
        add angle 10D1
                          6CA2 50E2
       add angle 20D1
add angle 20D1
add angle 20D1
                           6CA2
                                 30D1
                           6CA2 40
                          6CA2 50E1
       add angle 20D1
                           6CA2 50E2
       add angle 30D1 6CA2 40
add angle 30D1 6CA2 50E1
       add angle 30D1 6CA2 50E2
       add angle 40 6CA2 50E1
add angle 40 6CA2 50E1
add angle 50E1 6CA2 50E2
       add improper 6CA2 10D1 20D1 30D1
add improper 6CA2 10D1 30D1 40
add improper 6CA2 10D1 40 50E1
            improper 6CA2
                              10D1 50E1
                                            50E2
       add
            improper
                        6CA2
                              10D1 50E2
                                            20D1
       add
       add improper 6CA2
add improper 6CA2
add improper 6CA2
                              20D1 10D1
20D1 50E2
                                            50E2
                                            30D1
                               20D1
                                     30D1
                                            10D1
        add
            improper
                        6CA2
                               30D1 10D1
                                            20D1
       add improper 6CA2
add improper 6CA2
                               30D1 20D1 40
       add improper
                               30D1 40
                                            10D1
       add
            improper
                        6CA2
                               40
                                     10D1
                                           30D1
        add improper
                        6CA2 40
                                     30D1 50E1
       add improper 6CA2 40
add improper 6CA2 50
                                     50E1
                                            10D1
                              50E1 10D1
       add improper
add improper
                                            40
                        6CA2
                               50E1
                                     40
                                            50E2
        add
            improper 6CA2
                              50E1
                                     50E2 10D1
       add improper 6CA2 50E2 10D1 50E1
add improper 6CA2 50E2 50E1 20D1
       add improper 6CA2 50E2 20D1 10D1
    end
end
patch PCA1
                            19 and segid "")
21 and segid "")
23 and segid "")
  reference=1=(resid
  reference=2=(resid
  reference=3=(resid
                            25 and segid "")
30 and segid "")
  reference=4=(resid
  reference=5=(resid
                             1 and segid "CACL")
  reference=6=(resid
end
patch PCA2
  reference=1=(resid
                            54 and segid "")
56 and segid "")
  reference=2=(resid
  reference=3=(resid
                            58 and segid "")
                            60 and segid "")
  reference=4=(resid
                            65 and segid "")
  reference=5=(resid
  reference=6=(resid
                             2 and segid "CACL")
end
write structure output=../betv4g70_ca2+.psf end
@min_betv4_cluster.inp
{* write coordinates *}
remarks produced by nmr/generate_template.inp
write coordinates output=../betv4g70_ca2+.pdb end
```

#### 10.6.8 Protokolldatei sa\_betv4.inp

stop

```
remarks sa_l.inp
remarks Author: Michael Nilges
evaluate ($ini_count = 0)
evaluate ($end_count = 60)
evaluate ($iniseed = 567313)
!evaluate ($iniseed = 554321) !changed HS
evaluate ($init_t = 2000 ) {* initial simulated annealing temperature *}
```

```
evaluate ($high_steps = 80000) !20000
evaluate ($cool1_steps = 120000) !30000
evaluate ($cool2_steps = 60000) !15000
evaluate ($fileroot = "../run_22/betv4_22_")
!evaluate ($reference = "il8_n.pdb")
evaluate ($template = "../extchain/dgsa_g70_5.pdb")
structure @@../betv4g70_ca2+.psf end
structure @@../axis.psf end
parameter
              @@../parallhdg_min.pn
@@../parameter.ca2+
end
parameter @@../par_axis_3.pro end
parameter nbfix S S 462 13.6 462 13.6 end
parameter
    bond (name sg) (name sg) 0.0 TOKEN
angle (all) (name sg) (name sg) 0.0 TOKEN
end
noe
           reset
           nrestraints = 5000
                                                                ! allocate space for NOEs
           ceiling 100
           class
                           dist @../../noe/noes_22.txt
                                  @../../cnoesyhsqc/cnoes_22.txt
@../../d2o/noesy_d2o/aronoes_22.txt
@../../hbondhsqc/hbonds_22.txt
!
             class
                            ambi @tight_ambig.tbl
           set echo on message on end
           averaging
                           * sum
                         * soft
* 1.0
           potential
           scale
           sqconstant * 1.0
sqexponent * 2
           soexponent * 1
rswitch * 1.0
           rswitch * 1.0
sqoffset * 0.0
asymptote * 2.0
end
carbon
           phistep=180
           psistep=180
nres=300
           class all
           force 0.5
           potential harmonic
           @/raid1/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/c13shifts/rcoil_c13.tbl
@/raid1/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/c13shifts/expected_edited_c13.tbl
           @../../sidechain/cacb_22.txt
end
collapse
           assign (resid 5:84) 50.0 11.7
           scale 1.0
end
evaluate ($ksani = 0.01)
sani
    nres=1000
    class JNH
force $ksani
    potential harmonic
    coeff 0.0 -12.7 0.37
    @../../ipap_11mgphg/nhdc_11mgphg_22.sani
end
restraints dihedral
           nassign=1000
@@../../hnha/dihangles_22.txt
end
couplings
  potential harmonic
class phi
   force 1.0
  nres 300
  set echo on message on end
  @../input/coupl.list
set echo off message off end
!
end
```

```
6 and
7 and
17 and
                                     name SG)(resid30 and<br/>46 andname SG)2.020.10.1name SG)(resid46 and<br/>57 andname SG)2.020.10.1name SG)(resid57 andname SG)2.020.10.1
   assign (resid
1
! assign (resid
! assign (resid
                                     name SG)(resid
!end
evaluate (\$ramacoff = -0.5*10.0**2)
evaluate ($krama = 1.0)
rama
  nres=10000
   cutoff=$ramacoff
  @/raid1/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/shortrange_gaussians.tbl
@/raid1/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/new_shortrange_force.tbl
! @/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/all_na_gaussians.tbl
!
   @/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/force_nucleic.tbl
end
@/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/newshortrange_setup.tbl
!@/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/setup_nucleic_new.tbl
flags exclude * include bonds angle impr vdw noe carb harm sani cdih coup end
set echo on message on end
@setup_swap_orig.hs
vector ident (store2) (store1)
parameter
    improper (store2) (store2) (all) (all) 0.0 TOKEN TOKEN
    improper (all) (all) (store2) (store2) 0.0 TOKEN TOKEN
end
set echo false message false end
vector do (fbeta=10) (all) {* friction coefficient for MD heatbath, in 1/ps *}
vector do (mass=100) (not resid 500)
vector do (mass=30) (resid 500)
evaluate ($kcdih = 5)
restraints dihedral
       scale=$kcdih
end
evaluate ($count = $ini_count)
while ($count < $end_count ) loop main</pre>
    evaluate ($count=$count+1)
    evaluate ($nreassign = 0)
    coor @@$template
    coor @@../axis.pdb
evaluate ($seed =$count*$iniseed)
    set seed $seed end
    @sa_l_randomchain.xplor
    evaluate ($cpu1 = $cpu)
                                            \left\{ \begin{array}{c} \mathsf{K} \\ \mathsf{K} \\ \mathsf{K} \end{array} \right\}
    evaluate ($final1_t = 1000)
evaluate ($final2_t = 100)
evaluate ($tempstep = 50)
    evaluate ($ncycle = ($init_t-$final1_t)/$tempstep)
evaluate ($nstep = int($cool1_steps/$ncycle))
    @@sa_l_initial_values.xplor
    parameter
      angle (store2) (all) (store2) $ini_flt TOKEN
angle (all) (all) (store2) $ini_flt TOKEN
    end
    parameter nbonds
        atom cutnb 12 tolerance 3.5 repel=1.2 wmin 0.5
        rexp=2 irexp=2 rcon=1. nbxmod 4
    end end
    @@sa_l_reduced.xplor { defines store1 }
    constraints
        interaction (all) (not storel) weights * 1 angl 1.0 impr 1.0 vdw 0.0 elec 0 end interaction (storel) (storel) weights * 1 angl 1.0 impr 1.0 vdw 0.1 elec 0 end
    end
    ! Fixing the axis using harmonic restraint
```

Ince

```
! leave out, let both rotate
vector do (refx=x) (all)
vector do (refy=y) (all)
vector do (refz=z) (all)
!vector do (harmonic=20.0) (resid 500 and name OO) !vector do (harmonic=0.0) (resid 500 and name Z ) !vector do (harmonic=0.0) (resid 500 and name X )
!vector do (harmonic=0.0) (resid 500 and name Y )
!vector do (harmonic=0.0) (not (resid 500))
!restraints harmonic exponent=2 end
constraints fix (resid 500 and name 00) end
restraints dihedral scale=5. end
noe potential * soft scale * 1.0 asymptote * 2.0 end
sani class JNH force $k_sani end
minimize powell nstep=50 drop=10. nprint=25 end
@sa_cyto_hightemp.xplor
{* 3 ======= cooling 1 *}
@sa cyto cool1.xplor
{* 4 ======== cooling 2 *}
@sa_cyto_cool2.xplor
{* 5 ======== final minimization *}
evaluate ($swap = 1.001)
flags exclude * include noe end
@swap15v.xplor
flags include bond angl impr vdw noe carb coll harm sani cdih coup rama end
minimize powell nstep=200 drop=10.0 nprint=25 end
carbon force 0.0 end flags exclude * include bond angl impr vdw noe carb harm sani cdih coup end
minimize powell nstep=1000 drop=10.0 nprint=25 end
carbon force 0.5 end
evaluate ($filename=$fileroot+ encode($count)+ ".pdb")
evaluate ($axisname=$fileroot+ encode($count)+ ".axis")
print threshold=0.3 noe
evaluate ($rms_noe=$result)
evaluate ($violations_noe=$violations)
print threshold=5. cdih
evaluate ($rms_cdih=$result)
evaluate ($violations_cdih=$violations)
print threshold=0.5 brade
print thres=0.05 bonds
evaluate ($rms_bonds=$result)
print thres=0.5 angles
evaluate ($rms_angles=$result)
print thres=5. impropers
evaluate ($rms_impropers=$result)
carbon print thres=2.0 end
evaluate ($rms_ashift=$rmsca)
evaluate ($rms_bshift=$rmscb)
evaluate ($viol_shift=$violations)
collapse print end
sani print thres=0.5 class JNH end
evaluate ($rms_sani_JNH=$result)
evaluate ($viol_sani_JNH=$violations)
remarks initial random number seed: $seed
remarks
                     overall, bonds, angles, improper, vdw, noe, carbon, sani, cdih
remarks bonds,angles,impropers,noe,cdih
remarks rms-dev.: $rms_bonds,$rms_angles,$rms_impropers,$rms_noe,$rms_sani_JNH,$rms_cdih
remarks shifts RMSD Ca, Cb: $rms_ashift, $rms_bshift
                                                       remarks ==========
remarks noe, sani, cdih
remarks violations.: $violations_noe, $viol_sani_JNH, $violations_cdih
remarks shifts: $viol_shift
write coordinates sele= (not resid 500) output =$filename end
```

```
write coordinates sele= (resid 500) output =$axisname end
evaluate ($fname=$fileroot+ encode($count)+ ".prt")
set print = $fname end
noe print thresh = 0.05 end
close $fname end
evaluate ($fname=$fileroot+ encode($count)+ ".pcs")
set print = $fname end
close $fname end
evaluate ($fname=$fileroot+ encode($count)+ ".rgr")
set print = $fname end
close $fname end
evaluate ($fname=$fileroot+ encode($count)+ ".rgr")
set print = $fname end
close $fname end
evaluate ($fname=$fileroot+ encode($count)+ ".sani")
set print = $fname end
sani print thresh = 0.5 class JNH end
close $fname end
```

```
end loop main
```

stop

#### 10.6.9 Protokolldateimin\_sam22\_sani\_j.inp

```
remarks sa_l.inp
remarks Author: Michael Nilges
evaluate ($ini_count = 0)
evaluate ($end_count = 1)
evaluate ($iniseed = 567313)
!evaluate ($iniseed = 554321)
                                                     !changed HS
evaluate ($init_t = 2000 ) {* initial simulated annealing temperature *}
evaluate ($high_steps = 80000) !20000
evaluate ($cool1_steps = 120000) !30000
evaluate ($cool2_steps = 60000) !15000
evaluate ($fileroot = "../run_1/sam22_1_")
!evaluate ($reference = "il8_n.pdb")
evaluate ($template = "../sam22_model_min.pdb")
structure @@../sam22.psf end
structure @@../axis.psf end
parameter @@../parallhdg_min.pn end
parameter @@../par_axis_3.pro end
parameter nbfix S S 462 13.6 462 13.6 end
parameter
     bond (name sg) (name sg) 0.0 TOKEN
     angle (all) (name sg) (name sg) 0.0 TOKEN
end
noe
              reset
              nrestraints = 5000
                                                                              ! allocate space for NOEs
              ceiling 100
                                  dist @../../noe/noes_1.txt
    @../../cnoesyhsqc/cnoes_1.txt
    @../../hbondhsqc/hbonds_1.txt
               class
1
 !
!
1
                                           @../../aromaten_noesy/aronoes_1.txt
                                  ambi @tight_ambig.tbl
               class
              set echo on message on end
             averaging * sum
potential * soft
                                 * 1.0
              scale
              sqconstant * 1.0
sqexponent * 2
             sqexponent * 2
soexponent * 1
rswitch * 1.0
sqoffset * 0.0
asymptote * 2.0
end
carbon
             phistep=180
              psistep=180
              nres=300
             class all
force 0.5
             potential harmonic
```

```
@/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/cl3shifts/rcoil_cl3.tbl
@/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/cl3shifts/expected_edited_cl3.tbl
            @../../sidechain/cacb_1.txt
end
collapse
           assign (resid 1:157) 50.0 15.0
scale 1.0
1
end
evaluate ($ksani = 0.01)
sani
    nres=1000
    class JNH
    force $ksani
    potential harmonic coeff 0.0 9.0 0.05
    @../../ipap_18mgphg/nhdc_18mgphg_1.sani
end
restraints dihedral
           nassign=1000
           @@../../hnha/dihangles_1.txt
end
couplings
   potential harmonic
   class phi
   force 1.0
   nres 300
  set echo on message on end
  @../input/coupl.list
set echo off message off end
1
end
                          6 and name SG)(resid
7 and name SG)(resid
17 and name SG)(resid
!noe
                                         name SG)(resid 30 and name SG) 2.02 0.1 0.1
name SG)(resid 46 and name SG) 2.02 0.1 0.1
name SG)(resid 57 and name SG) 2.02 0.1 0.1
   assign (resid
    assign (resid
   assign (resid
!end
evaluate ($ramacoff = -0.5*10.0**2)
evaluate ($krama = 1.0)
rama
   nres=10000
   cutoff=$ramacoff
   @/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/shortrange_gaussians.tbl
  @/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/new_shortrange_force.tbl
@/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/all_na_gaussians.tbl
@/raidl/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/force_nucleic.tbl
1
1
end
@/raid1/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/newshortrange_setup.tbl
!@/raid1/philipp/xplor-nih-1.2.1/databases/torsions_gaussians/setup_nucleic_new.tbl
flags exclude * include bonds angle impr vdw noe carb harm sani cdih coup end
set echo on message on end
@setup swap orig.hs
vector ident (store2) (store1)
parameter
    improper (store2) (store2) (all) (all) 0.0 TOKEN TOKEN
improper (all) (all) (store2) (store2) 0.0 TOKEN TOKEN
end
set echo false message false end
vector do (fbeta=10) (all) {* fri
vector do (mass=100) (not resid 500)
                                           {* friction coefficient for MD heatbath, in 1/ps *}
vector do (mass=30) (resid 500)
evaluate ($kcdih = 5)
restraints dihedral
        scale=$kcdih
end
evaluate ($count = $ini_count)
while ($count < $end_count ) loop main</pre>
```

```
evaluate ($count=$count+1)
evaluate ($nreassign = 0)
coor @@@$template
coor @@@../axis.pdb
evaluate ($seed =$count*$iniseed)
set seed $seed end
evaluate ($cpu1 = $cpu)
evaluate (final1_t = 1000)
evaluate (final2_t = 100)
evaluate (ftempstep = 50)
                                                 { K }
{ K }
{ K }
evaluate ($ncycle = ($init_t-$final1_t)/$tempstep)
evaluate ($nstep = int($cool1_steps/$ncycle))
@@sa_l_initial_values.xplor
parameter
  angle (store2) (all) (store2) $ini_flt TOKEN
angle (all) (all) (store2) $ini_flt TOKEN
end
parameter nbonds
    atom cutnb 12 tolerance 3.5 repel=1.2 wmin 0.5 rexp=2 irexp=2 rcon=1. nbxmod 4
end end
@@sa_l_reduced.xplor { defines store1 }
constraints
    interaction (all) (not storel) weights * 1 angl 1.0 impr 1.0 vdw 0.0 elec 0 end
interaction (storel) (storel) weights * 1 angl 1.0 impr 1.0 vdw 0.1 elec 0 end
end
! Fixing the axis using harmonic restraint ! leave out, let both rotate
vector do (refx=x) (all)
vector do (refy=y) (all)
vector do (refz=z) (all)
!vector do (harmonic=20.0) (resid 500 and name OO)
!vector do (harmonic=0.0) (resid 500 and name Z )
!vector do (harmonic=0.0) (resid 500 and name X )
!vector do (harmonic=0.0) (resid 500 and name Y )
!vector do (harmonic=0.0) (not (resid 500))
!restraints harmonic exponent=2 end
constraints fix (resid 500 and name 00) end
for $knoe in (10 20 30 40 50) loop anne
    noe scale dist $knoe scale ambi $ini_amb scale hbon $ini_amb end
     flags exclude * include noe end
     evaluate ($swap = 1.001)
     @swap15v.xplor
     flags include bond angl impr vdw noe carb coll harm sani cdih coup rama end
end loop anne
                                  scale=200.
restraints dihedral
                                                       end
sani class JNH force 1.0 end
parameter
                                                       {* parameters for the repulsive energy term *}
 nbonds
    repel=1.
                                                   {* initial value for repel - modified later *}
     rexp=2 irexp=2 rcon=1.
    nbxmod=3
     wmin=0.01
     cutnb=4.5 ctonnb=2.99 ctofnb=3.
     tolerance=0.5
end
end
     evaluate ($k_vdw=$fin_con)
     evaluate ($radius=$fin_rad)
     evaluate ($k_flt=$fin_flt)
     evaluate ($k_ang=$fin_ang
    evaluate ($k_imp=$fin_imp)
evaluate ($k_amb =$fin_amb)
    parameter
       handleter
bond (name sg) (name sg) $k_flt TOKEN
angle (all) (name sg) (name sg) $k_flt TOKEN
angle (store2) (all) (store2) $k_flt TOKEN
angle (all) (all) (store2) $k_flt TOKEN
        nbonds repel=$radius end
     end
```

```
constraints
      interaction (all) (all) weights * 1 vdw $k_vdw end
    end
   noe scale ambi $k_amb scale hbon $k_amb end
{* 5 ========= final minimization *}
evaluate ($swap = 1.001)
flags exclude * include noe end
@swap15v.xplor
flags include bond angl impr vdw noe carb coll harm sani cdih coup rama end
minimize powell nstep=200 drop=10.0 nprint=25 end
carbon force 0.0 end flags exclude * include bond angl impr vdw noe carb harm sani cdih coup end
minimize powell nstep=1000 drop=10.0 nprint=25 end
carbon force 0.5 end
{* 6 ================================== write out the final structure(s) *}
evaluate ($filename="../sam22_model_min_sani_j.pdb")
evaluate ($axisname="../sam22_model_min_sani_j.axis")
 print threshold=0.3 noe
 evaluate ($rms_noe=$result)
evaluate ($violations_noe=$violations)
print threshold=5. cdih
evaluate ($rms_cdih=$result)
evaluate ($violations_cdih=$violations)
print thres=0.05 bonds
evaluate ($rms_bonds=$result)
print thres=0.5 angles
evaluate ($rms_angles=$result)
print thres=5. impropers
evaluate ($rms_impropers=$result)
carbon print thres=2.0 end
evaluate ($rms_ashift=$rmsca)
evaluate ($rms_bshift=$rmscb)
evaluate ($viol_shift=$violations)
collapse print end
sani print thres=0.5 class JNH end
evaluate ($rms_sani_JNH=$result)
evaluate ($viol_sani_JNH=$violations)
remarks initial random number seed: $seed
remarks overall, bonds, angles, improper, vdw, noe, carbon, sani, cdih
remarks energies: $ener, $bond, $angl, $impr, $vdw, $noe, $carb, $sani, $cdih, $coup
remarks
                      bonds, angles, impropers, noe, cdih
remarks
                          noe, sani, cdih
remarks violations.: $violations_noe, $viol_sani_JNH, $violations_cdih
remarks shifts: $viol_shift
write coordinates sele= (not resid 500) output =$filename end
write coordinates sele= (resid 500) output =$axisname end
evaluate ($fname="../sam22_model_min_sani_j.prt")
set print = $fname end
 noe print thresh = 0.1 end
close $fname end
evaluate ($fname="../sam22_model_min_sani_j.pcs")
set print = $fname end
carbon print thresh = 2.0 end close $fname end
 evaluate ($fname="../sam22_model_min_sani_j.rgr")
 set print = $fname end
collapse print end
close $fname end
evaluate ($fname="../sam22_model_min_sani_j.sani")
set print = $fname end
sani print thresh = 0.5 class JNH end
close $fname end
```

end loop main

stop

### 10.6.10 Topologiedatei cast\_top.txt

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

#### 10.6.11 Parameterdatei cast\_par.txt

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

#### 10.6.12 Topologiedatei DHO\_top.txt

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

#### 10.6.13 Parameterdatei DHO\_par.txt

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

#### 10.6.14 Topologiedatei PC2\_top.txt

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

#### 10.6.15 Parameterdatei PC2\_par.txt

Die Datei befindet sich aus Platzgründen auf der beigefügten CD-ROM.

## 11. Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von September 2000 bis Juli 2003 am Lehrstuhl für Struktur und Chemie der Biopolymere der Universität Bayreuth unter Leitung von Prof. Dr. Paul Rösch angefertigt. Ihm möchte ich insbesondere für das interessante Thema auf dem Gebiet der Strukturbiologie der Allergene mit den notwendigen wissenschaftlichen Freiräumen sowie für die wirklich hervorragenden materiellen Arbeitsmöglichkeiten danken.

Die meisten der im Rahmen dieser Arbeit strukturbiologisch untersuchten Allergene stammen aus einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Stefan Vieths von der Abteilung Allergologie des Paul-Ehrlich-Instituts. Bei ihm und seinen Mitarbeitern, insbesondere Dr. Stephan Scheurer, Dr. Regina Wiche und Andrea Wangorsch, bedanke ich mich für die zuverlässige und vertrauensvolle Zusammenarbeit und die Einblicke in das einem Physiker doch sehr fremde Gebiet der Immunologie. Für Bet v 4 darf ich mich bei Prof. Dr. Fátima Ferreira von der Universität Salzburg bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Trainingspartner vom TSV Bayreuth 1999 n. e. V. Prof. Dr. Heinrich Sticht. Manchmal habe ich das Gefühl, dass er viele meiner positiven wissenschaftlichen Seiten durch seine in mancherlei Hinsicht vorbildliche Berufseinstellung stärker mitgeprägt hat, als mir bewusst ist.

Zu danken habe ich auch Dr. Kristian Schweimer für die vielen im Rahmen seiner Doktorarbeit entwickelten Prozessierungsroutinen und vor allem Pulsprogramme, die auch die Messungen an noch unbekannten NMR-Spektrometern zum Vergnügen werden ließen. Außerdem möchte ich mich bei Markus Zeeb und PD Dr. Jochen Balbach für das Pulsprogramm und die nützlichen Hinweise für die NMR-Translationsdiffusionsmessungen bedanken.

Zum Messvergnügen am Bruker DMX750 der Technischen Universität München trug nicht zuletzt die Gastfreundschaft der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Horst Kessler bei. Bedanken muss ich mich hier vor allem bei Beate Diaw, Monika Goede, Alexander Frenzel, Dr. Rainer Haeßner und PD Dr. Gerd Gemmecker, die immer schnell bei der Hand waren, wenn der Stickstoff knapp wurde oder eine LED leuchtete, die das normalerweise nicht tut.

Bedanken möchte ich mich auch bei Petra Deuerling, Nadine Herz, Ulrike Herzing, Katrin Lehmann und Jörg Nerkamp für die Herstellung der NMR-Proben und andere Arbeiten im Nasslabor, bei Anke Eisenmann für die geduldige Auswertung der Relaxationsdaten von holo Bet v 4 und bei Thomas Lauber für die analytischen Ultrazentrifugationen an Bet v 4. Wer so viel am Rechner arbeitet wie ich weiß natürlich auch sehr zu schätzen, dass jemand wie Rainer Hofmann sich darum kümmert, dass alles möglichst reibungslos läuft. Außerdem bedanke ich mich bei Angela Rösler, Sabine Ruckdäschel und Gudrun Wagner für ihre Unterstützung in den ungeliebten Verwaltungsangelegenheiten. Auch bei allen anderen ehemaligen oder gegenwärtigen Angehörigen des Lehrstuhls möchte ich mich für die vielen interessanten Erfahrungen bedanken.

Sehr dankbar bin ich natürlich auch dem Freistaat Bayern, dem Fonds des Verbandes der Chemischen Industrie, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Bundesministerium für Bildung und Forschung für die großzügige finanzielle Unterstützung meines Studiums und meiner Promotion.

Schließlich möchte ich mich auch bei meinen Eltern für ihre Unterstützung bedanken sowie bei den vielen anderen Menschen, die es trotz ständiger Absagen der Art "muss arbeiten" nicht aufgegeben haben, mich trotzdem immer wieder zu fragen.

# 12. Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

Name:	Philipp Bruno Neudecker
Geburtsdatum:	27. 05. 1974
Geburtsort:	Hof
Eltern:	Bruno Neudecker und Christa Neudecker, geb. Böger
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	deutsch

## Schulausbildung

16.09.1980	Einschulung in die Parkschule Münchberg
18.09.1984	Übertritt in das Gymnasium Münchberg
09. 07. 1993	Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

### Wehrdienst

01. 07. 1993	Antritt des Grundwehrdienstes bei der 3. / PzArtBtl. 115 in Neunburg vorm Wald
30. 06. 1994	Ausscheiden aus dem Grundwehrdienst

### Hochschulstudium

01. 10. 1994	Aufnahme eines Studiums der Physik an der Universität Bayreuth
28. 10. 1996	Ablegung der Diplom-Vorprüfung
02. 09. 1997	Beginn eines Auslandsaufenthaltes an der University at Albany, State University of New York
17.05.1998	Abschluss des Auslandsstudiums als Master of Science
25. 02. 1999	Ablegung des mündlichen Teils der Diplom-Hauptprüfung
21.05.1999	Beginn der Diplomarbeit bei Prof. Dr. Paul Rösch, Universität Bayreuth
	Thema: "Strukturbestimmung von Pru a 1"
22.05.2000	Abschluss des Studiums als Diplom-Physiker Univ.
15.06.2000	Anstellung als Wissenschaftlicher Angestellter an der Universität Bayreuth
01. 09. 2000	Beginn der Doktorarbeit bei Prof. Dr. Paul Rösch, Universität Bayreuth
	Thema: "Strukturbestimmung von Birkenpollenallergenen und birkenpollenassoziierten
	Nahrungsmittelallergenen mit NMR-Spektroskopie"
30. 09. 2000	Ende der befristeten Anstellung als Wissenschaftlicher Angestellter an der Universität Bayreuth
01. 10. 2002	Anstellung als Wissenschaftlicher Angestellter an der Universität Bayreuth

## Stipendien

01. 10. 1994 - 31. 03. 2000	Stipendium nach dem BayBFG vom Freistaat Bayern
01. 10. 2000 - 30. 09. 2002	Stipendium vom Fonds des Verbandes der Chemischen Industrie
16. 09. 2000 - 19. 09. 2000	Reisestipendium von der Wilhelm und Else Heraeus-Stiftung zur Teilnahme
	Ärzte in Bonn
12. 09. 2001 - 19. 09. 2001	Reisestipendium von der European Molecular Biology Organization zur
	Teilnahme am Practical Course on Structure Determination of Biological
	Macromolecules by Solution NMR in Heidelberg
07. 06. 2003 - 11. 06. 2003	Reisestipendium von der European Academy of Allergology and Clinical
	Immunology zur Teilnahme an ihrem XXII. Kongress in Paris
11. 06. 2003 - 13. 06. 2003	Reisestipendium von der Hanns-Martin-Schleyer-Stiftung zur Teilnahme am
	I. Interdisziplinären Kongress Junge Naturwissenschaft und Praxis in
	München

## 13. Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Ferner erkläre ich, dass ich nicht anderweitig mit oder ohne Erfolg versucht habe, eine Dissertation einzureichen oder mich der Doktorprüfung zu unterziehen.

Bayreuth, 10. 7. 2003