

Exploring the full sequence landscape of *Bacillus subtilis* lipase A towards thermostability and detergent resistance

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Alexander Fulton

aus Mönchengladbach

Düsseldorf, Oktober 2014

Aus dem Institut für Molekulare Enzymtechnologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des DFG Graduiertenkollegs der RWTH Aachen: BioNoCo – Biocatalysis using nonconventional media (GrK 1166) angefertigt.

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Herr Prof. Dr. Karl-Erich Jaeger
Korreferent: Herr Prof. Dr. Holger Gohlke

Tag der mündlichen Prüfung: 03.12.2014

Selbständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass die vorgelegte Dissertation „Exploring the full sequence landscape of *Bacillus subtilis* lipase A towards thermostability and detergent resistance“ von mir selbstständig verfasst und unter ausschließlicher Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel gemäß der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt wurde. Bisher habe ich keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

Ort, Datum	Alexander Fulton

Acknowledgements

I would like to express my gratitude and appreciation to my supervisor Prof. Dr. Karl-Erich Jaeger for giving me the opportunity to work on this very interesting and current topic. I am very thankful for the continuous interest in my work, the inspiring discussions, the amount of freedom in the experiments, and the constant support in publishing my results and the support to publish in cooperation with other working groups.

I would also like to thank Prof. Dr. Holger Gohlke for agreeing to act as second referee.

Next, I would like to thank Prof. Dr. Ulrich Schwaneberg and his co-workers from the Institute of Biotechnology (RWTH Aachen) for the great cooperation, which made this project possible. Especially, I would like to thank Josiane Frauenkron-Machedjou for the fruitful collaboration. In addition, I like to thank Dr. Marco Bocola for giving me insights into the modeling and simulation of protein structures.

I would like to thank Prof. Jochen Büchs for his commitment, which sparked the cooperation with Natalie Rahmen, to whom I would also like to express my thanks for the collaboration.

I want to thank Prof. Dr. Holger Gohlke and Prakash Rathi for the cooperation regarding the collaborative work on the thermal stability of BSLA.

Further, I want to thank Dr. Yuval Nov (Department of Statistics, University of Haifa, Israel) for the cooperation and his help with mathematical and statistical questions.

Furthermore, many thanks to Dr. Filip Kovačić, Dr. Andreas Knapp and Pia Skoczinski for the helpful discussions and critical review of the manuscript.

Moreover, my thanks also go to all employees of the Institute for molecular enzyme technology and members of the working group “Microbial Expression Technology” (Dr. Funken / Dr. Kovačić). Thank you for the friendly working environment in the offices and

labs. I thank Dipl.-Ing. Holger Gieren for his technical support to realize the automated liquid handling on the pipetting robot.
Further, I would like to thank my students Katrin Röllen, Kristina Hüsgen and David Dickmann. I sincerely thank Dr. Susanne Wilhelm, Prof. Dr. Martina Pohl and Dr. Ulrich Krauß for valuable tips at different time points of the project. In particular, I would like to express my thanks to Dr. Andreas Knapp, Dr. Alexander Pelzer and Pia Skoczinski for their unwavering personal and professional support during the time.

I thank Dr. Agnes Csiszar for the support in the measurement of micro-calorimetric measurements. I also thank Ramona Justinger for providing me access to the circular dichroism spectrophotometer.

Herewith, I would like to thank the graduate college “BioNoCo - Biocatalysis in non-conventional media” and the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) for the financial support. I thank all members and supervisors for their friendly support, and the many helpful suggestions and ideas during the workshops.

Most importantly, I want to thank my close friends, my parents and my sister for their constant support throughout the years at university and during my doctoral studies. Thank you so much!

Abstract

Biocatalysis represents an environmentally friendly alternative to traditional chemical catalysis. However, biocatalysts are enzymes which have not been evolved by nature to operate under chemical process conditions, i.e. in the presence of organic solvents, surfactants, or ionic liquids. These compounds can interfere with the protein water shell, disturb electrostatic interactions and thus lead to unfolding, aggregation, and finally loss of enzymatic activity. Protein stability under these conditions can be increased by means of directed evolution. Current approaches, however, tend to apply semi-rational design with small library sizes to limit the screening effort by targeting sites of a protein known to be important for stability. After all, rationales applied to date are derived from results which most likely failed to identify all potential sites for optimization since they are biased in many ways. (I) The experiments are usually designed with only limited coverage along the protein sequence or with respect to the substituted amino acids (e.g. epPCR, Ala-scanning mutagenesis). (II) The results only contain the most prominent variants with multiple mutations, leaving out valuable information about the influence of single mutations and additive effects. (III) The results only cover mutations with the highest positive impact but give no information about sites which only show little, none, or negative effects.

A full site saturation mutagenesis was generated to ensure complete coverage to capture the full sequence landscape of a model enzyme avoiding all of the mentioned limitations. The lipase BSLA (encoded by the gene *lipA* from *Bacillus subtilis*) was chosen as model enzyme. BSLA is a minimal α-/β-hydrolase and is biochemically well characterized, its crystal structure is known, and its biotechnological potential has been demonstrated. Multiple screening experiments were performed to characterize each variant in respect to stability against elevated temperatures, changes in the preferred fatty acid chain length, and resistance against different types of surfactants. The resulting dataset can now be used to identify all amino acids of BSLA involved in resistance and thus provide targets for protein engineering strategies. The results hold great potential to advance rational engineering strategies towards the customized design of a given biocatalyst under defined process conditions.

Zusammenfassung

Biokatalyse stellt eine umweltfreundliche Alternative zur herkömmlichen chemischen Katalyse dar. Allerdings sind Biokatalysatoren Enzyme, die natürlicherweise nicht daran angepasst sind unter chemischen Verfahrensbedingungen, z.B. in Gegenwart von organischen Lösungsmitteln, Detergenzien, oder ionischen Flüssigkeiten, verwendet zu werden. Diese Verbindungen beeinflussen die Hydrathülle und die elektrostatischen Wechselwirkungen des Proteins, welches letztendlich zu Aggregation und Verlust der enzymatischen Aktivität führen kann. Methoden der gelenkten Proteinevolution können die Proteinstabilität für diese Bedingungen erhöhen. Gegenwärtige Ansätze verwenden dabei semi-rationale Strategien um Durchmusterungsanstrengungen auf dafür bekannte Bereiche des Proteins zu konzentrieren. Allerdings beruhen diese Überlegungen grundsätzlich auf publizierten Ergebnissen, die wahrscheinlich nicht alle für die Optimierung wichtigen Bereiche des Proteins identifizieren konnten, da sie aus mehreren Gründen nicht repräsentativ sind: (I) decken diese Experimente nicht den gesamten Sequenzraum des Proteins ab und sind in der Auswahl der substituierenden Aminosäure eingeschränkt (z.B. epPCR, Ala-Scanning-Mutagenese). (II) beschränken sich die Ergebnisse vornehmlich auf die prominentesten Varianten, in denen oft eine Vielzahl von Mutationen eingebracht wurden, sodass wertvolle Informationen über den Einfluss der einzelnen Mutationen und additive Effekte fehlen. (III) berichten publizierte Ergebnisse meist nur von Mutationen mit dem größten positiven Einfluss, ohne Informationen über den Beitrag von Aminosäure-Substitutionen mit geringeren, neutralen oder negativen Auswirkungen.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine vollständige Sättigungsmutagenese durchgeführt, um eine vollständige Abdeckung zu gewährleisten und um den vollständige Sequenzraum eines Modellenzyms zu erfassen. Dadurch werden alle bereits erwähnten experimentellen Beschränkungen aufgehoben. Die Lipase BSLA (kodiert durch das Gen *lipA* aus *Bacillus subtilis*) wurde als Modellenzym ausgewählt. BSLA ist die kleinste bekannte α-/β-Hydrolase, biochemisch charakterisiert, mit bekannter Kristallstruktur und nachgewiesenem biotechnologischen Potential. Mehrere Durchmusterungsexperimente wurden durchgeführt, um jede Enzymvariante in Bezug auf Stabilität gegenüber erhöhten Temperaturen, Änderungen in der bevorzugten Fettsäurekettenlänge und Resistenz gegenüber verschiedenen Arten von Tensiden zu charakterisieren. Der resultierende Datensatz dient nun zur Identifizierung aller Aminosäurepositionen der BSLA, welche für die Stabilität oder die Aktivität der BSLA und somit als Ziel für Proteinoptimierung von Bedeutung sind. Diese Ergebnisse besitzen großes Potenzial für rationale Strategien hinsichtlich der maßgefertigten Anpassung von Biokatalysatoren auf die jeweiligen Prozessbedingungen.

List of publications

Fulton, A., Frauenkron-Machedjou, J., Skoczinski, P., Wilhelm, S., Schwaneberg, U., Jaeger, K.-E. (2014). **Exploring the protein stability landscape: *Bacillus subtilis* lipase lipA as a model for detergent resistance.** *ChemBioChem*, submitted.

Frauenkron-Machedjou, J., **Fulton, A.**, Zhu, L., Jaeger, K.-E., Schwaneberg U. (2014). **Towards understanding of directed evolution: more than half of all amino acid positions contributed to ionic liquid resistance of *Bacillus subtilis* lipase A.** *ChemBioChem*, submitted.

Rahmen, N., **Fulton, A.**, Ihling, N., Magni, M. , Jaeger, K.-E., Buechs, J. (2014). **Exchange of single amino acids at different positions of recombinant protein dramatically influences metabolic burden in *Escherichia coli*.** *Microbial Cell factories*, accepted for publication.

Nov, Y., **Fulton, A.**, Jaeger, K.-E. (2013). **Optimal scanning of all single-point mutants of a protein.** *J Comput Biol.*; **20**(12):990-7. doi: 10.1089/cmb.2013.0026.

List of poster presentations

Fulton, A., Frauenkron-Machedjou, J., Schwaneberg, U., Wilhelm, S., Jaeger, K.-E. (2011). **Systematic approach to decipher the rationales behind detergent and thermostability of a model lipase.** 10th international Symposium on Biocatalysis book of abstracts, Biotrans 2011, Giardini Naxos, Italy.

Fulton, A., Frauenkron-Machedjou, J., Schwaneberg, U., Jaeger, K.-E. (2012). **Systematical approach to decipher the rationales behind the detergent and thermostability of a model lipase.** Sonderband der Biospektrum zur VAAM Jahrestagung 2012, Tuebingen, Germany.

Fulton, A., Frauenkron-Machedjou, J., Skoczinski, P., Wilhelm, S., Schwaneberg, U., Jaeger, K.-E. (2013). **Systematic study of a model biocatalyst towards increased resistance in detergent solutions.** 11th international Symposium on Biocatalysis, Biotrans 2013, Manchester, United Kingdom.

Frauenkron-Machedjou, J., Zhu, L., **Fulton, A.**, Schwaneberg, U., Wilhelm, S., Jaeger, K.-E., (2011). **Deciphering rationales determining the stability of a lipase in non-conventional solvents.** Biotrans 2011, Italy.

Frauenkron-Machedjou, J., **Fulton, A.,** Jaeger, K.-E., Schwaneberg, U. (2012). **Deciphering rationales determining the stability of a lipase in non-conventional solvents.** Poster. Biocat 2012, Hamburg, Germany.

Frauenkron-Machedjou J., **Fulton, A.**, Zhu, L., Jaeger, K.-E., Schwaneberg U. (2013). **Deciphering rationales determining the stability of a lipase in non-conventional solvents.** 11th international Symposium on Biocatalysis, Biotrans 2013, Manchester, United Kingdom.

Skoczinski, P., Huesgen, K., **Fulton, A.**, Knapp, A., Funken, H., Jaeger, K.-E. (2014). **Systematic mutational analysis of lipase secretion in *Bacillus subtilis.*** Sonderband der Biospektrum zur VAAM 2014, Dresden, Germany.

List of oral presentations

Fulton, A., Frauenkron-Machedjou, J., Schwaneberg, U., Jaeger, K.-E. (2012). **Systematic study of a model lipase towards stability in non-conventional media.** Zing Biocatalysis Conference 2012, Xcaret, Mexico.

Fulton, A., Frauenkron-Machedjou, J., Skoczinski, P., Wilhelm, S., Schwaneberg, U., Jaeger, K.-E. (2013). **Systematic study of a model biocatalyst towards resistance in non-conventional solvents.** BioNoCo Summer School 2013, Aachen, Germany.

Nov, Y., **Fulton, A.**, Frauenkron-Machedjou J., Schwaneberg U., Jaeger, K.-E. (2014) **Annealing bias in site saturation mutagenesis.** Biocat 2014, Hamburg, Germany.

Fulton, A., Frauenkron-Machedjou, J., Skoczinski, P., Wilhelm, S., Schwaneberg, U., Jaeger, K.-E. (2014). **Full protein stability landscape: *Bacillus subtilis* lipase lipA as a model for detergent resistance.** Sonderband der Biospektrum zur VAAM 2014, Dresden, Germany.

Table of contents

Acknowledgements ..... **IV**
Abstract ..... **VI**
List of publications ..... **VIII**
List of tables ..... **XIII**
List of figures ..... **XIV**
1. Introduction **1**
1.1 Lipolytic enzymes **1**
1.1.1 *Bacillus subtilis* lipase A as model protein 5
1.2 Protein stability in biocatalysis **7**
1.2.1 Stabilizing forces in a protein 7
1.2.2 Destabilizing effects of co-solvents 10
1.2.3 Protein thermal resistance 12
1.3 Strategies in protein engineering **13**
1.3.1 Directed evolution using high throughput screening (HTS) 14
1.3.2 Rational design 14
1.3.3 Semi-rational approaches 16
1.4 Aim of this thesis **17**
2. Material and methods **19**
2.1 Chemicals and enzymes **19**
2.2 Equipment **19**
2.3 Bacterial strains and plasmids **21**
2.4 Oligonucleotides **21**
2.5 Kits **22**
2.6 Buffer **22**
2.7 Microbiological methods **23**
2.7.1 Cultivation and storage of bacteria 23
2.7.2 Electroporation of *Escherichia coli* DH5α 23
2.7.3 Chemical transformation of *E. coli* 24
2.7.4 Transformation of *Bacillus subtilis* protoplasts 24
2.8 DNA methods **26**
2.8.1 Agarose gel electrophoresis of nucleic acids 26
2.8.2 Microplate-array diagonal-gel electrophoresis (MADGE) 26

2.8.3 Standard polymerase chain reaction (PCR) 28
2.8.4 Site directed and site saturation mutagenesis (SDM/SSM) 29
2.8.5 *In vitro* recombination of DNA 30
2.8.6 DNA-Sequencing 30
2.8.7 NextGen IonTorrent sequencing 30
2.9 Protein methods 32
2.9.1 Measurement of protein concentration 32
2.9.2 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) 32
2.9.3 Immunological detection of BSLA (Western Blot) 33
2.9.4 Zymographic esterase activity assay 34
2.9.5 Immobilized metal affinity chromatography (IMAC) 34
2.9.6 Differential scanning calorimetry (DSC) 35
2.9.7 Circular dichroism (CD) spectroscopy 35
2.9.8 Differential scanning flourimetry (DSF) 36
2.9.9 BSLA activity measurement 37
2.9.10 BSLA resistance screening 39
2.9.11 Measurement of thermostability based on residual lypolytic activity 40
2.10 Computational methods 41
3. Results and Discussion 43
3.1 Complete site saturation mutagenesis 43
3.1.1 BSLA is released into the culture supernatant of *E. coli* strain BL21(DE3) 43
3.1.2 Optimization of current mutagenesis methods for the efficient full site saturation mutagenesis of BSLA 46
3.1.3 Next generation sequencing methods hold great potential for the sequencing of site saturation libraries 49
3.2 Full sequence analysis of BSLA activity 51
3.2.1 Adjustment of biomass production in a MTP format expression system 51
3.2.2 The central β-sheets are least tolerant towards substitutions 51
3.2.3 Proline substitutions are the most frequent cause for inactive variants, followed by aromatic or charged amino acids 54
3.2.4 The GXSXG pentapeptide and active site residues show more tolerance towards substitutions than expected according to sequence conservation 56
3.2.6 Change in the preferred substrate fatty acid chain length by substitutions at the rim of the active site cleft 60
3.3 *Bacillus subtilis* lipase lipA as a model for detergent resistance 69

3.3.1 Detergents show reproducible time-dependent activating and inactivating effects on BSLA activity 69
3.3.2 Changes in residual activity in presence of the anionic detergent SDS 74
3.3.3 Negatively charged substitutions can increase resistance towards the cationic detergent CTAB 79
3.3.4 The zwitterionic SB 3-16 shows a combination of effects from the anionic and cationic charge 83
3.3.5 The nonionic Tween 80 interferes with hydrophobic interactions 87
3.3.6 Cysteine introduces the most dramatic changes among the single amino acid substitutions 91
3.4 Thermal resistance screening of all possible single site amino acid exchanges in BSLA 99
3.4.1 Temperature induced inactivation of BSLA 99
3.4.2 Exploring the full protein thermostability landscape 102
3.4.3 Validation of screening results 107
3.5 Stability landscapes as a tool for bioinformatics 110
4. Conclusion and Outlook 114
5. References 118
6. Appendix 132
6.1 Primer sequences 132
6.2 DNA and amino acid sequence *Bacillus subtilis* lipase A 145
6.2.1 MCS in pET22lipAPelB and pET28lipAPelB 145
6.2.2 MCS in pET22lipAΔss and pET28lipAΔss 146
6.2.3 MCS in pBSlipAssLipA 148
6.3 Perl source code 150
6.4 Detergent and thermal resistance of each variant 160

List of tables

Table 1-1 BSLA as model protein for directed evolution and rational design 6
Table 1-2 Overview of stabilizing forces within a protein 9
Table 2-1 List of bacterial strains and genotype.....21
Table 2-2 List of plasmids and inserts.....21
Table 2-3 List of oligonucelotides.....21
Table 2-4 Overview of the *p*NP-esters used in this study 37
Table 2-5 Overview of detergents used in this thesis.....39
Table 3-1 Overview of protocol modifications to optimize library generation 47
Table 3-2 List of variants with a shift towards *p*NPB hydrolysis.....64
Table 3-3 List of variants with a shift towards *p*NPS preference.....65
Table 3-4 Detergents and concentrations used for resistance screening 71
Table 3-5 Analysis of the possible dimer interfaces.....96
Table 6-1 Table of single Site Saturation Mutagenesis (SSM) primers used..... 132
Table 6-2 List of Site directed mutagenesis primers (SDM) primers..... 135
Table 6-3 List of primers for mulltiplex IonTorrent sequencing. 142

List of figures

Figure 1-1 Structural comparison of the canonical α/β-hydrolase fold and the minimal BSLA fold....3
Figure 1-2 Schematic overview of the lipase reaction mechanism. 4
Figure 1-3 Overview of stabilizing forces in proteins important for protein folding....8
Figure 1-4 Overview of current approaches in protein engineering (modified from Steiner and Schwab, 2012). 15
Figure 2-1 Representation of the CAD object used to print the polyamide comb for gel casting. 27
Figure 2-2 DNA electrophoretic analysis of samples from amplicons of libraries for AA position 176 stained with EtBr. 28
Figure 2-3 Automated liquid handling platform for screening of the BSLA library....38
Figure 3-1 Comparison of the lipolytic activity and protein content in heterologous and homologous BSLA producing clones of *E. coli* BL21(DE3) and *B. subtilis* TEB1030 respectively. 45
Figure 3-2 Exemplary agarose gel of a site saturation PCR product. 46
Figure 3-3 Yield and number of site directed mutations per position 48
Figure 3-4 Summary of IonTorent® sequencing results. 50
Figure 3-5 Location and chemical properties of inactivating substitutions in BSLA. 52
Figure 3-6 Tertiary structure representation colored by the number of inactive clones in the full library 53
Figure 3-7 Frequency of each amino acid among the inactivating substitutions....55
Figure 3-8 Variability of the conserved GXSXG motif. 56
Figure 3-9 Oxyanion hole residues I12 and M78 58
Figure 3-10 Dispersion of the relative ratios between the substrates for BSLA....61
Figure 3-11 Location of substitutions causing a loss of activity against *p*NPP and *p*NPS. 62
Figure 3-12 Salt bridge Y139-R107-D144. 63
Figure 3-13 Surface representation around the active site of BSLA. 67
Figure 3-14 Change of residual activity in dependence of concentration and incubation time with purified BSLA 70
Figure 3-15 Distribution of observed changes in resistance during detergent screening 72

Figure 3-16 Relative change of residual activity compared to the wild type in 0.35mM SDS as a heat map representation. 75
Figure 3-17 Summary of SDS screening results 76
Figure 3-18 Relative change of residual activity compared to the wild type in CTAB as a heat map representation....80
Figure 3-19 Summary of CTAB screening results....81
Figure 3-20 Relative change of residual activity compared to the wild type in SB3-16 as a heat map representation....84
Figure 3-21 Summary of SB3-16 screening results 85
Figure 3-22 Relative change of residual activity compared to the wild type in Tween 80 as a heat map representation. 88
Figure 3-23 Summary of Tween 80 screening results....89
Figure 3-24 BSLA single amino acid substitutions with an increased resistance to SDS, CTAB, SB3-16 and Tween 80 92
Figure 3-25 Western blot and zymogram of BSLA in the culture supernatant of variants with Cys substitutions. 94
Figure 3-26 Surface representation showing the possible contact between BSLA molecules 95
Figure 3-27 Determination of BSLA thermostability by biophysical methods.... 100
Figure 3-28 Heat map representation of change in residual activity after 30min incubation 103
Figure 3-29 Number of variants with a significant change of residual activity after 30 min incubation at 50 °C. 104
Figure 3-30 Location of Pro and Gly substitutions in a 3D structure representation... 105
Figure 3-31 SDS-PAGE of IMAC purified $BSLA_{his}$ variants.... 107
Figure 3-32 Correlation of screening results with the melting temperature of selected variants 108
Figure 3-33 3D Overlay of experimental results on the crystal structure of the wild type BSLA.... 111
Figure 3-34 Example for a result page from a search for variants with correlating resistance to SB3-16 and CTAB. 112

Abbreviations

a.u.	arbitrary units
AA	amino acid
AD	years according to the Gregorian calendar (lat.: *anno domini)*
Amp	ampicillin
aq. dest.	destilled water (lat. *aqua destillatum*)
B.subtilis	*Bacillus subtilis*
BSLA	*Bacillus subtilis* lipase A
CD	circular dichroism
CMC	critical micelle concentration
CTAB	cetyl triammonium bromide
C-terminal	carboxyl terminal
DMSO	dimethyl sulfoxide
DNA	desoxyribonucleic acid
dNTPs	deoxyribonucleotide triphosphates
DSC	differential scanning calorimetry
DSF	differential scanning fluorimetry
E.coli	*Escherichia coli*
EC	enzyme commission number
EtBr	Ethidium bromide
Fig.	figure
g	gram
h	hours (lat.: *hora*)
$His_{(6)}$	a repetitive sequence of six histidine residues
kb	kilo-bases
kcal	kilo calories
kDa	kilo-Dalton
MADGE	microplate array diagonal gel electrophoresis
min	minutes
MTP(s)	microtiter plate(s)
MW	molecular weight
N-terminal	amino-terminal
O.D.	optical density
PAGE	poly acryl amide gel electrophoresis
PCR	polymerase chain reaction
PDB	protein data base
Pos.	amino acid position in the mature BSLA
rpm	rounds per minute
s	seconds
S	size standard
SDM	site directed mutagenesis
SDS	sodium dodecyl sulfate
SSM	site saturation mutagenesis
Tab.	table
Tm	melting temperature
Tween 80	polyoxyethylene sorbitan monooleate
v/v	volume per volume
w/v	weight per volume
α	alpha
β	beta
ε	epsilon (used for the extinction coefficient)
λ	lamda (used to denote wavelengths)
μ	micro (10^{-6})
σ	sigma (standard deviation)

The amino acids in this thesis are abbreviated according to recommendations of the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). (GDR *et al.*, 1984)

1. INTRODUCTION

Enzymes are biological macromolecules produced by every living organism to catalyze specific biochemical reactions. Essentially enzymes increase the reaction rate of biological processes so that they occur on a timescale compliant with life. Enzymes used to catalyze a chemical reaction are referred to as a "Biocatalyst". In general, the use of biocatalysts can be broadly defined as biocatalysis, which is a steadily increasing field offering a number of possible advantages over traditional chemical synthesis. Biocatalysis can usually be operated at mild conditions, close to room temperature and moderate pressure. This is often termed as 'green chemistry', meaning more sustainable and less polluting than purely chemistry based processes. Enzyme catalyzed reactions are especially of advantage for reactions requiring a high regio-, stereo- or enantioselectivity (Adlercreutz, 2013; Jaeger *et al.*, 1999; Jaeger and Reetz, 1998). In the past, reaction conditions were usually optimized to meet or affect the properties of the biocatalyst. Today's knowledge of molecular biology allows protein engineering of naturally occurring enzymes to meet the requirements of the chemical reaction, thereby increasing the applicability of biocatalysis. Especially the field of synthetic biology is of great interest. Synthetic biology combines computational science, chemistry and molecular biology to design enzymes and organisms. Eventually an increasing knowledge will allow the creation of new enzyme classes, the theozymes (Koga *et al.*, 2012; Tantillo *et al.*, 1998). These computationally modelled enzymes would be able to catalyze reactions which are not found naturally by implementing the required geometries to build a catalyst able to stabilize the transition state for that reaction (Mak and Siegel, 2014; Richter *et al.*, 2012).

1.1 Lipolytic enzymes

According to the classification of the Enzyme Commission, lipases or so-called triacylglycerol-hydrolases belong into EC 3.1.1.3. Lipases catalyze not only the hydrolysis, but also the synthesis of esters formed from glycerol and long-chain fatty acids depending on the reaction conditions (Jaeger and Reetz, 1998). Lipases are found in all domains of life and show a large variety of accepted substrates accompanied with interesting properties of high enantio-, and regioselective reactions (Funke *et al.*, 2003; Jaeger and Eggert, 2004; Jaeger and Reetz, 1998). Most bacterial lipases are found as

secreted proteins hydrolyzing rather sparingly soluble substrates to supply the host cells with carbon sources (Hausmann *et al.*, 2010). Through this adaptation, many naturally occurring lipases do not require costly cofactors for their activity and they are already very stable even under harsh reaction conditions, e.g. presence of organic solvent, high temperatures, and high salt concentrations (Villeneuve and Muderhwa, 2000; Zaks and Klibanov, 1984). The sum of these advantages made lipases a very popular subject for research. Lipases have been isolated from many different organisms and are established as a useful tool for a variety of industrial applications (Kapoor and Gupta, 2012; Sharma *et al.*, 2001). A research report from 2011 highlights that lipases constitute the third largest product segment (after proteases and carbohydrases) in the global industrial enzyme market with high growth potential (Global Industry Analysts, 2011). Lipases are directly or indirectly involved in the production of many products of daily life, for example paper, food, leather, detergents, biodegradable polyesters, biodiesel or enantiopure pharmaceutical products (Hasan *et al.*, 2006; Nagarajan, 2012). The most common type of reactions catalyzed by lipases are hydrolysis, esterification, transesterification and interesterification processes (Yahya *et al.*, 1998).

As far as the definition of lipolytic enzymes is concerned, originally (Desnuelle and Sarda, 1958) published a definition based on kinetic terms of the phenomenon of interfacial - activation at oil/water interfaces. This phenomenon is caused by a rather low activity of most lipases on monomeric substrates and strongly enhanced reaction rates against an aggregated “super substrate” (Schmid and Verger, 1998), like oil droplets in emulsions or micelle solutions. This distinction between esterases and lipases has undergone some changes, structural investigations led to a definition based on the presence of a lid structure governing the access to the active site (Brzozowski *et al.*, 1991). However, both definitions were not able to appropriately classify the special group of lipases among the esterase superfamily (Jaeger *et al.*, 1993). The current definition is therefore based on the preference towards the hydrolysis of hydrophobic triacylglycerides with more than eight carbon atoms (Ali *et al.*, 2012; Schmid and Verger, 1998). Lipases catalyzing long chain fatty ester hydrolysis, bearing a lid structure with conformational changes upon substrate binding, and showing an interfacial activation are still referred to as ‘true lipases’ (Nagarajan, 2012).

The structural determination of the human pancreas lipase structure (Winkler *et al.*, 1990) and the lipase from *Rhizomocur miehei* (Derewenda *et al.*, 1992) and later of other lipases revealed the existence of a characteristic common folding pattern, the α-/β-hydrolase motif (Ollis *et al.*, 1992). This motif is since known as a very common canonical fold, which is composed of eight mostly parallel β-strands surrounded by six α-

helices (Figure 1-1A). Currently there are 1,335 structures in the PDB (Protein DataBase) and more than >40,000 manually curated protein sequences in the ESTHER (ESTerases and α-/β-hydrolase Enzymes and Relatives) database (Renault *et al.*, 2005). Besides the fold, also a catalytic triad is conserved while the superfamily contains a high divergence in functions among a number of promiscuous enzymes with more than one defined function, for example proteases, lipases, peroxidases, epoxide hydrolases and dehalogenases.

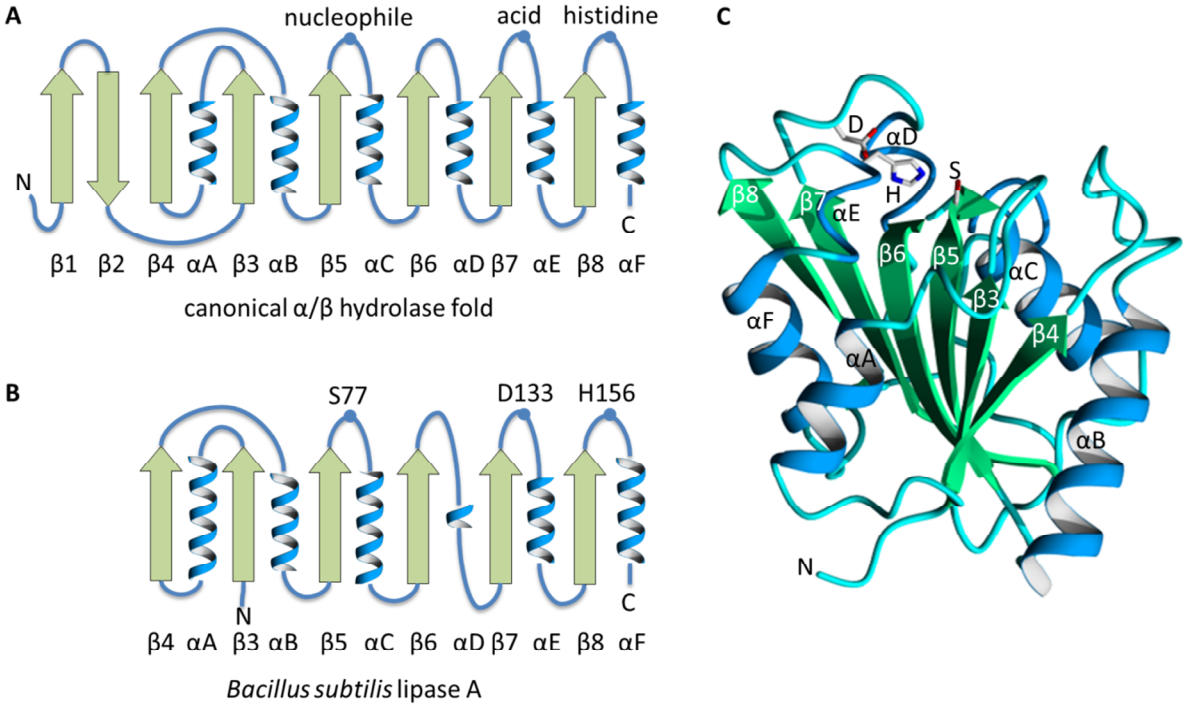


Figure 1-1 Structural comparison of the canonical α/β-hydrolase fold and the minimal BSLA fold.

(A) Canonical secondary structure topology and **(B) BSLA secondary structure topology**, modified from (Heikinheimo *et al.*, 1999; van Pouderoyen et al., 2001), β-sheets are colored green, and α-helices are colored blue **(C) 3D structure ribbon model representation**, active site residues as stick model (PDB: 1I6W). Yasara was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004).

In lipases, the catalytic triad is composed of Ser, His, and Asp or Glu (Heikinheimo *et al.*, 1999). The nucleophilic Ser is located at the C-terminal end of β5 in a highly conserved pentapeptide, GXSXG (X= any amino acid). This pentapeptide forms a very sharp γ turn named the nucleophilic elbow (Jaeger *et al.*, 1999; Nardini and Dijkstra, 1999; Ollis *et al.*, 1992). This strand-turn-helix-motif is very characteristic for all α-/β-hydrolases (Schrag and Cygler, 1997) and required to adopt energetically unfavorable torsion angles in the peptide backbone which expose the Ser. The catalytic acid, Asp or Glu, is most commonly situated in a loop after β7 and interacts with a hydrogen bond with the catalytic His in a loop after β8 (Fig.1-2A). This leads to the deprotonation of His which

then pulls the proton from Ser. The deprotonated oxygen from the catalytic Ser performs a nucleophilic attack on the carbon atom of the ester linkage carbonyl group (Figure 1-2A). This generates a tetrahedral intermediate which forms hydrogen bonds with backbone nitrogen atoms in the "oxyanion hole". The oxyanion hole is formed by two amide groups of the peptide backbone, one behind the catalytic active serine and one at the end of β3 (Fig. 1-2B). This arrangement stabilizes the negative charged transition state during the hydrolysis reaction (Jaeger *et al.*, 1999). The acyl-lipase complex stays in a bonded state after the release of an alcohol (Figure 1-2C) upon which it is hydrolyzed to release the carboxylic acid moiety (Figure 1-2D) and regenerate the biocatalyst (Gupta *et al.*, 2004; Heikinheimo *et al.*, 1999; Jaeger and Reetz, 1998; Nardini and Dijkstra, 1999). The analysis of the electrostatic surface around the active sites of several lipases and esterases has shown a negative potential which most likely increases the reaction rate by expelling the ionized carboxylic acid also termed as a "electrostatic catapult" (Petersen *et al.*, 2001).

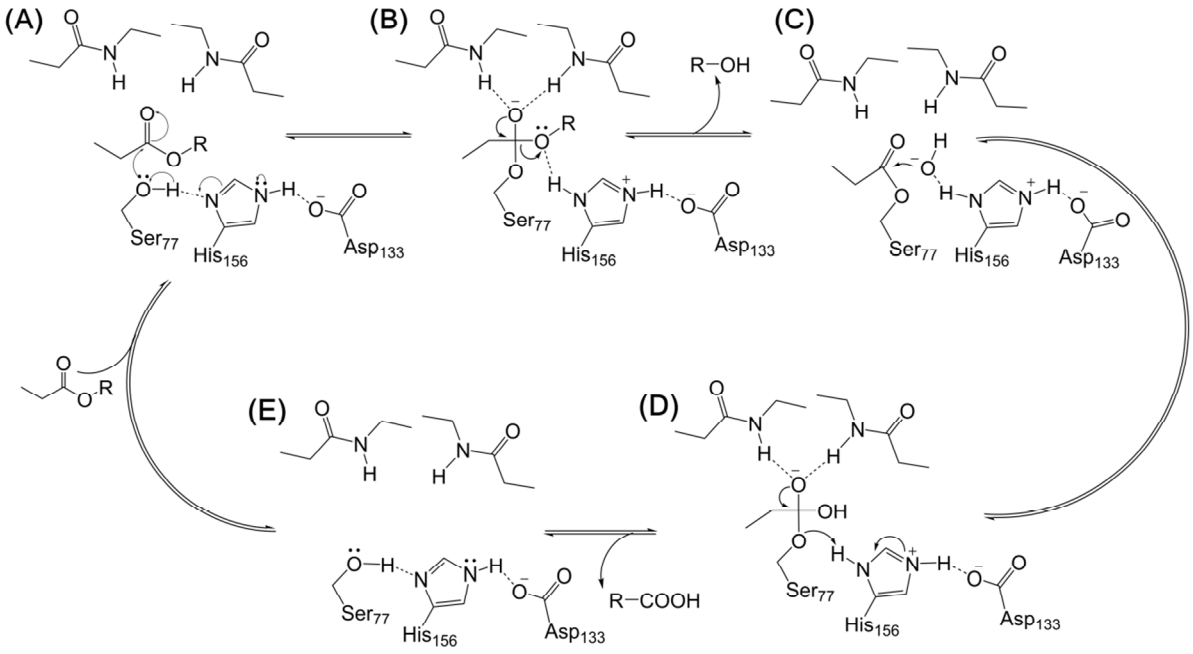


Figure 1-2 Schematic overview of the lipase reaction mechanism.

The active site is represented by the three amino acids Ser, His and Asp (catalytic triad) and the two backbone amide groups ("oxyanion hole") required to stabilize the transition state. (A) The interaction between the catalytic triad leads to an activation of Ser that enables a nucleophilic attack of the carbon atom on the ester linked carbonyl group of the substrate molecule. (B) This leads to a tetrahedral transition state with a negative charge at the oxygen atom stabilized in the oxyanion hole. (C) The resulting acyl-lipase complex is stabilized in a second tetrahedral transition state shown in (D). (E) The fatty acid is released and the enzyme is regenerated for another reaction cycle. The indicated numbers are the amino acid positions in the lipase BSLA which was the focus of this thesis.

1.1.1 *Bacillus subtilis* lipase A as model protein

Bacillus subtilis is a Gram-positive aerobic endospore producing microorganism generally regarded as safe (GRAS) by the Food and Drug Administration (FDA, USA). *B. subtilis* is commonly found in soil and on plant surfaces and is being used in Japan and Korea for the fermentation of soybean since ancient times (1,000 AD). One of the earliest published genomes was the genome of *B. subtilis* (Kunst *et al.*, 1997) and since has become one of the best-established Gram-positive model organisms for laboratory studies (1,139 publications on PubMed in 2013[1], 29,219 in total[1]). In particular, the efficient secretion system of *B. subtilis* makes it a popular host organism for the production of homologous and heterologous proteins (Pohl and Harwood, 2010; Schallmey *et al.*, 2004; Westers *et al.*, 2004). Among those homologous secreted proteins the *Bacillus subtilis* lipase A (BSLA) has become a popular target for biotechnological studies. The biotechnological relevance of BSLA was first shown by the asymmetric hydrolysis of *meso*-1,4-diacetoxy-2-cyclopentene (Funke *et al.*, 2003). BSLA is a monomeric, mesophilic enzyme with a molecular weight of only 19.3 kDa (181 AA) and thus the smallest known α-/β-hydrolase. BLSA has been classified as a lipase based on the preference of fatty acids with a chain length of eight carbon atoms (Dartois *et al.*, 1992; Lesuisse *et al.*, 1993). It shows no dimerization, interfacial activation (Eggert, 2001) or lid structure. In comparison to the canonical α-/β-hydrolase fold the BSLA structure was termed as the minimal fold for an α-/β-hydrolase. As shown in Figure 1-1C, BSLA lacks the β1- and β2-sheets and contains only a reduced αD-helix (van Pouderoyen *et al.*, 2001). The sequence of the highly conserved GXSXG pentapeptide is altered by mutation of the first Gly into Ala (BSLA pentapeptide: AHSMG), which is common for lipases from *Bacillus sp.* (Arpigny and Jaeger, 1999). The pH optimum is in the range of pH 8-11 while the enzyme is stable up to pH 12 (Lesuisse *et al.*, 1993).
BSLA has been the target of multiple studies (Table 1-1) focusing on thermostability, enantioselectivity and organic solvent stability. It was shown that especially the residues 16-20 close to the oxyanion hole were important for enantioselectivity (Boersma *et al.*, 2008b; Dröge *et al.*, 2006) while substitutions beneficial for stability were identified throughout the sequence (Table 1-1).

[1] http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=%22bacillus+subtilis%22 , accessed 15.09.2014

Table 1-1 Studies with BSLA as model protein for directed evolution and rational design

Property	Method	Positions[a]	Reference
enantioselectivity	complete site saturation mutagenesis	Y49C, Q60L, N50S, I22V, Q60R	Funke *et al.*, 2003
enantioselectivity	phage display	N18I	Dröge *et al.*, 2006
enantioselectivity	loop grafting	11-20[b*]	Boersma *et al.*, 2008
thermostability	iterative saturation mutagenesis on flexible regions	M134D*/I157M*/ Y139C*/K112D/ R33G	Reetz *et al.*, 2006 Gumulya and Reetz, 2011
thermostability	epPCR and recombination based on structural information	A15S/F17S*/ A20E/N89Y/ G111D/L114P/ A132D*/I157M*/ N166Y, M134E*/ M137P*/S163P	Acharya *et al.*, 2004, Ahmad *et al.*, 2008, Kamal *et al.*, 2011
organic solvent stability	site saturation mutagenesis on loop regions	I12L, W42L, A68S, P119S, Y139K*, L140V, L140F	Yedavalli and Rao, 2013
thermostability	rational packing enhancement	G80A/N106A, A38V/K23A, A75V/T83A, G172A/V100A	Yun *et al.*, 2013
low temperature activity	site saturation mutagenesis on loop regions	F17G*, A132G*, M134P*, M137G*, G155D	Kumar *et al.*, 2014

[a] results in these columns state the substitutions found in each of the studies, individual clones are separated by comma while simultaneous mutations are indicated by a forward-slash.
[b] indicated residues were replaced with sequences from *Fusarium solani* cutinase (residues 41-53) or *Penicillium purpurgenum* acetylxylan esterase (residues 12-23).
* positions found in more than one study are marked with an asterisk, colored according to the position to allow easier overview between studies.

1.2 Protein stability in biocatalysis

1.2.1 Stabilizing forces in a protein

The net stability of a biocatalyst is maintained by a delicate balance of interactions which is defined by the difference in free energy (ΔG) between the native and denatured state (Anfinsen, 1973; Scharnagl *et al.*, 2005). All these interactions can be affected to different degrees by the environment around the protein. Specific interactions between amino acids are sparse and usually stronger, while nonspecific interactions are more numerous but weaker (Table 1-2) (Szilagyi *et al.*, 2007). The average free energy in the native fold of a monomeric small globular protein is about 7-17 kcal*mol^{-1}, which shows that just a few hydrogen bonds (each -1.5 kcal*mol^{-1}) can mean the difference between a stable or instable state (Pfeil, 2001).

The highest number of interactions can be contributed to van der Waals interactions which are caused by transient dipoles through momentary unequal fluctuations in the distribution of electrons of any atom (Waals, 1873). Two atoms which are close to each other will perturb the electron cloud of the other. This generates two attracting dipoles with weak attraction similar to the principle of attracting dipoles in polar covalent bonds. Van der Waals interactions are weak and mostly overridden by stronger interactions. In multimeric proteins, van der Waals interactions at the protein-protein interface contribute significantly to protein stability along with hydrophobic interactions.

Hydrophobic interactions (Figure 1-3, grey highlight) cause aggregation of hydrophobic or nonpolar molecules, similar to oil drops in water. These forces are the basis for the formation of lipid bilayer membranes and the dominant force in most protein structures (Dill, 1990), e.g. the central β-sheets inside of BSLA are formed mostly by interactions of nonpolar residue side chains and therefore is called hydrophobic protein core. These interactions are entropy driven since the solvation of nonpolar molecules in water would distort the usual water structure forcing the formation of an unfavorable highly ordered rigid cage of water molecules around the nonpolar molecules (Anfinsen, 1973).

Hydrogen atoms only form one covalent bond with another atom. However, hydrogen atoms bound to an electronegative donor atom form a polar bond with an unequal electron distribution (Figure 1-3, red highlight). The resulting partial positive charge at the

hydrogen atom is able to interact with other electronegative acceptor atoms with at least one nonbonding pair of electrons (Arunan *et al*., 2011). These non-covalent interactions are called H-bonds. The most important donors and acceptors for biology are nitrogen and oxygen in amino or hydroxyl groups, and in ester or peptide bonds respectively. Besides, water molecules are also polar and able to form hydrogen bonds with another along with other hydrogen bonding molecules. These interactions are very important for enzymatic activity; complete protein dehydration usually leads to a loss of its structure and activity (Hudson *et al*., 2005).

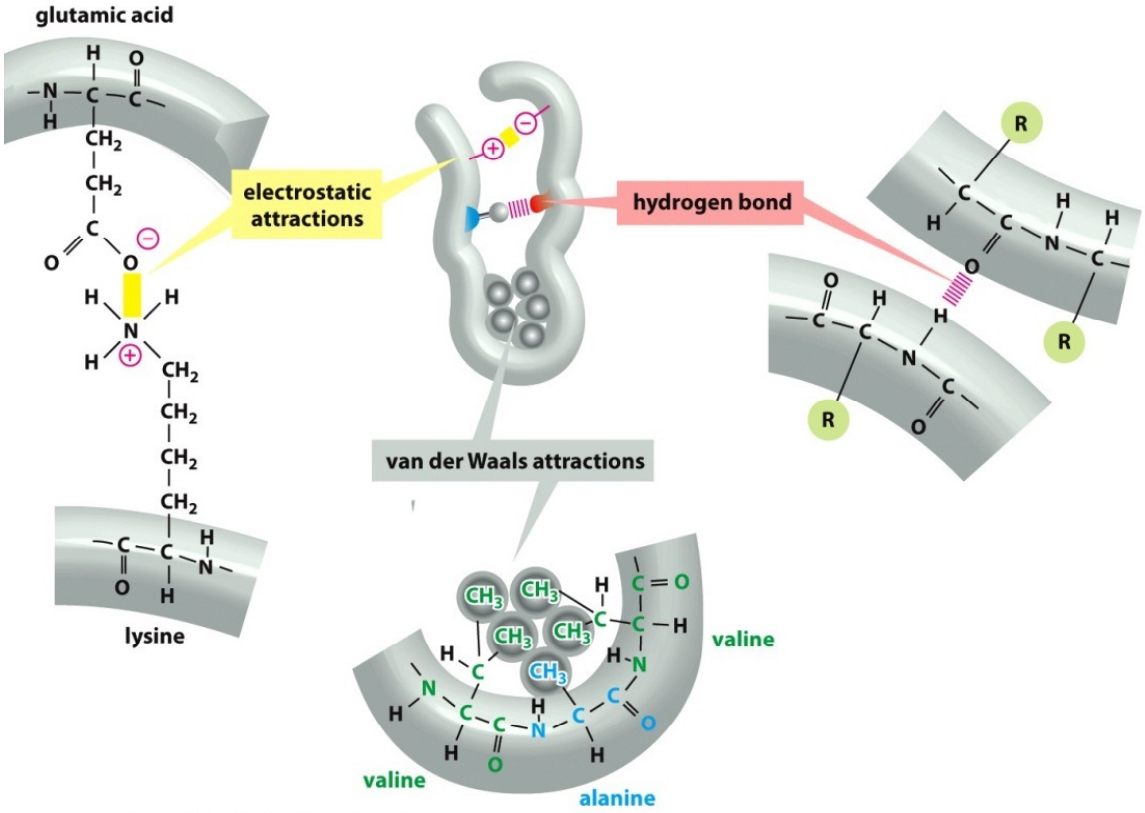


Figure 1-3 Overview of stabilizing forces in proteins important for protein folding.

The figure shows some examples between residue chains. red = hydrogen bonds, grey = van der Waals interactions, yellow = electrostatic interactions, R = amino acid side chain (Copyright 2010 from Essential Cell Biology, 3rd Edition by Alberts *et al*., Reproduced by permission of Garland Science/Taylor & Francis LLC, Hampshire, UK).

A combination of hydrogen bonds and electrostatic interactions between charged functional groups are called salt bridges (or ion pairs). Salt bridges (Figure 1-3) are pH dependent interactions between oppositely charged residues close enough to experience electrostatic attraction to each other. Most common residues are negatively charged Asp and Glu and positively charged Lys, Arg and His residue side chains (Donald, 2011). In some cases also the ionizable groups of Tyr, Cys, and the carboxyl or amino terminus have been shown to participate in electrostatic interactions (Pace *et al*., 2009). Several

examples have shown that a single salt bridge has a great impact on overall protein stability (Chen *et al.*, 2012; Georgescauld *et al.*, 2013; Kumar and Nussinov, 1999; Makhatadze and Loladze, 2003).

Table 1-2 Overview of stabilizing forces within a protein

Type	Nature	Occurrence	Contribution to folded state[e]	Free energy (kcal*mol^{-1})[a]
van der Waals interactions	non-covalent, nonspecific	all proteins	+++	~0-0.05[b]
hydrophobic interactions	non-covalent, less specific	all proteins	+++	~-0.3[b]
hydrogen bonds	non-covalent, more specific	all proteins	++++	~-1.5
salt bridges	non-covalent, specific	most proteins	+	~-2 to -5[d]
coordinate bonds	covalent, highly specific	metal-binding proteins	+	~-6
disulfide bonds	covalent, highly specific	secreted proteins	+	~0 (red.)[c], ~-100 (ox.)

red. = cytoplasma, reducing conditions, ox. = supernatant, oxidizing conditions.
[a] data from (Finkelstein and Ptitsyn, 2002; Kumar and Nussinov, 1999; Raschke *et al.*, 2001).
[b] based on methyl groups in water, twofold increased for aromatic rings.
[c] the formation of disulfide bonds inside the cell is assisted by thiol-disulfide exchange.
[d] (Makhatadze and Loladze, 2003).
[e] estimated by the contribution of forces involved in the conformational stability of RNase T1, (+) would equal around 4-7 kcal*mol^{-1} , (+++) about 94 kcal*mol^{-1}, and (++++) around 166 kcal*mol^{-1} (Pace *et al.*, 1996).

Coordinate bonds are a very specific arrangement of atoms found in metal-binding proteins. These bonds are based on electrostatic attractions and not as stable as covalent bonds. The metal is usually a cation that acts as electron pair acceptor while hydrophilic amino acid side chains act as electron pair donor. The amount of electron pair donors and their specific arrangement around the metal atom depend on the coordinate number of the metal ion bound in the complex.

Disulfide bonds are formed from the oxidation of sulfhydryl-groups (R-SH) found in the side chain of Cys to form a disulfide-bridge with a covalent bond between the two residues that can greatly affect the conformation of the protein. Disulfide bonds are most

commonly found in secreted proteins since the reducing environment of the cytoplasm prevents the reaction, while the periplasm and extracellular space are usually oxidizing (Depuydt *et al.*, 2009).

1.2.2 Destabilizing effects of co-solvents

Solvents and co-solvents are a major cause of enzyme destabilization and inactivation. These substances are added to the reaction to increase the solubility of substrates or shift equilibria to increase yield and selectivity of the catalyzed reaction. The stability of the biocatalyst is very important due to their costly production and purification which is often the main reason to maintain purely chemical approaches (Bornscheuer *et al.*, 2002; Kirk *et al.*, 2002; Turner, 2003). Hence, enzymes are often immobilized to enable easy recovery and recycling. However, the reuse is only feasible if the enzymes are not inactivated within a few cycles (Polizzi *et al.*, 2007). Enzymes generally require a certain water activity (Zaks and Klibanov, 1988) which often leads to unwanted side reactions due to the presence of water (Klibanov, 2001). Solvents can also directly affect and inactivate the enzyme, e.g. by interference with protein electrostatics. The most common co-solvents are ionic liquids, organic solvents or detergents (Adlercreutz, 2013).

Ionic liquids (ILs) are organic salts able to form a liquid state at ambient temperatures without the need of water or any other solvent. They are usually a mixture of two differently charged salts which interfere with each other (Johnson, 2007). The variation of the cation side chain and suitable anions allows adjusting of the viscosity and boiling point of the ILs. ILs have a very low vapor pressure, are moderately stable to increased temperatures and nonflammable. The high number of electrochemical interactions enables the solvation of other charged molecules but also interferes with salt bridges of proteins (van Rantwijk and Sheldon, 2007).

Organic solvents are the most commonly used group of non-aqueous solvents for chemical synthesis but also found in household products, as for example acetone (e.g. glue solvents), toluene (e.g. paint thinner), or ethanol (e.g. perfumes, stain removers). Organic solvents are used for reactions that need to be performed in water free environments to avoid side product formation due to auto hydrolysis or as a co-solvent to increase the solubility of other water-insoluble molecules (Khmelnitsky and Rich, 1999). As introduced before, enzymatic activity usually requires a residual amount of water

(<5%) which can be controlled with a defined water activity (Gupta and Roy, 2004). Organic solvents can also be used for two-phase systems which allow an easy separation of reaction components and can have the additional benefit of shifting reaction equilibria (Eggers *et al.*, 1989; Semenov, 1987). X-ray Crystal structures of hen egg-white lysozyme in complex with DMSO has shown binding into clefts of the protein resulting in local conformational changes (Mande and Sobhia, 2000). These findings have been supported by protein engineering experiments on other enzymes in which substitutions which shield the protein interior were able to increase organic solvent stability (Koudelakova *et al.*, 2013; Ogino *et al.*, 2007; Wong *et al.*, 2004). Binding of single organic solvent molecules to these sites and the resulting conformational changes may initialize unfolding by allowing additional solvent molecules to penetrate the protein interior (Klibanov, 1997; Serdakowski and Dordick, 2008).

Detergents, also called surfactants (surface active reagents), are popular as solubilizing agent for household uses but also in biochemistry for a broad range of insoluble hydrophobic reactants and proteins (Eriksson *et al.*, 2002; Garavito and Ferguson-Miller, 2001). Therefore, detergents are very common in lipase catalyzed reactions to increase the solubility of usually poorly water soluble lipase substrates. The solubilization is mediated by the amphiphilic properties of detergents which are composed of a hydrophobic tail region and hydrophilic head group. The first application of an enzyme/detergent mixture in 1913 used pancreatic enzymes for laundry applications and significantly increased the cleaning action (Röhm, 1913). The enzymatic activity creates smaller fragments through a catalytic hydrolysis which are solubilized by the detergents. Since then, many more enzymes were identified as suitable in a detergent environment. Nowadays household detergents, and dish liquids contain a variety of enzymes such as proteases, amylases, cellulases and lipases (Olsen and Falholt, 1998).
Detergents can inactivate the enzyme by interfering with protein electrostatics and alteration of the protein tertiary structure or blocking of the active site. However, detergents can also preserve activity and enzyme stability through the inhibition of protein aggregation (Eijsink *et al.*, 2004; Kamal *et al.*, 2011; Raghunathan *et al.*, 2013).
Detergents are amphipathic molecules with a hydrophobic fatty acid tail and a hydrophilic head group. The nature of the hydrophilic head group allows a classification into ionic, nonionic or zwitterionic detergents. Most ionic detergents (in this study SDS and CTAB) are very potent in protein unfolding (Santos *et al.*, 2003). Anionic detergents are generally more destabilizing to proteins than cationic detergents because of a difference in the electrostatic interactions at the usually neutral pH range of most reactions (Few *et*

al., 1955). Zwitterionic detergents combine both charges along a broad spectrum of pH values (Lund *et al*., 1989). Nonionic detergents are known to establish weaker interactions with proteins (De *et al*., 2005). The nonionic detergents increase the proteins conformation flexibility which is a result of the formation of hydrogen bonds between the detergent molecules and the enzyme (Zadymova *et al*., 2006). An increasing chain length of the lipophilic tail has been shown to promote protein denaturation (Lund *et al*., 1989). In general, nonionic detergents are better suited for destabilizing lipid-lipid and lipid-protein interactions while ionic detergents are better suited for destabilizing protein-protein interactions (Seddon *et al*., 2004).

1.2.3 Protein thermal resistance

Many processes require an increased temperature either to increase reaction rates or to evaporate reaction components, as a simple way of purification. Additionally thermostabiliizing substitutions have been reported to coincide with a general increase of robustness of the enzyme which also increases the stability towards solvents (Vazquez-Figueroa *et al*., 2008). Currently a large proportion of fundamental research is focused on thermostability to understand rationales of enzyme stability. In particular the proteins from thermophilic organisms which grow at temperatures between 50 - 80 °C are of great interest to understand the basic differences between mesophilic and their thermophilic equivalents (Besenmatter *et al*., 2007; Elleuche *et al*., 2014; Gromiha *et al*., 2013; Pezzullo *et al*., 2013; Rathi *et al*., 2012; Sadeghi *et al*., 2006).

In general, thermal stability cannot be attributed to a single kind of interaction. However, later stages of thermal unfolding can generally be contributed to hydration effects, with increasing temperature thermal motion increases and decreases the order of the protein water shell (Fersht, 1999). In addition the conformational entropy from the released polypeptide chain of the unfolded protein has also been shown to contribute to thermal unfolding (Fitter, 2003). While the stabilizing effect of the hydrophobicity driven protein packing diminishes with increasing temperature, the importance of electrostatic interactions, H-bonds, metal-ligand binding and disulfide bonds increases. This is supported by increased sizes in salt bridge networks and general stiffness in thermophile and hyperthermophile proteins (Goh *et al*., 2012; Pace *et al*., 2000; Sadeghi *et al*., 2006). However, this decrease in flexibility usually also compromises enzyme activity. Accordingly, psychrophilic enzymes are very flexible as an adaption to low temperatures which increases activity and resistance against cold denaturation (Gerday *et al*., 2000).

Temperatures of 100°C and above cause chemical destabilization (Asn/Gln deamination, peptide bond hydrolysis, Met oxidation) (Manning *et al.*, 2010; Vieille and Zeikus, 2001; Wright, 1991; Zale and Klibanov, 1986) in addition to the physical thermodynamic destabilization (described above).

1.3 Strategies in protein engineering

The global market for industrial enzymes is estimated to reach $4.4 billion by 2015 (BCC Reseearch, 2011), which increases the demand to identify new enzymes or engineer existing enzymes able to tolerate process conditions (Bommarius and Riebel-Bommarius, 2007; Villeneuve and Muderhwa, 2000). Protein engineering seeks to advance the understanding of enzymes in respect to properties such as stability, specificity and activity (Bornscheuer *et al.*, 2002). A deeper understanding would enable the creation of customized enzymes for pharmaceutical science, medicine and synthetic chemistry. In particular synthetic biology which uses computational models to design new proteins and further optimize these by molecular biology methods is an emerging field since complete gene synthesis has become affordable (Billerbeck *et al.*, 2013; Bornscheuer *et al.*, 2012; Kosuri and Church, 2014; Lippow *et al.*, 2010). However, recent examples have shown that current knowledge is not yet able to accomplish *de novo* design of new enzyme activities with sufficient activity. The most successful studies were able to design proteins with a basal activity or transfer certain activities between closely related enzymes (Koga *et al.*, 2012; Röthlisberger *et al.*, 2008; Steiner and Schwab, 2012). The design of new activities is very challenging since the configurationally stability of enzymes which is the ability to tolerate substitutions has been shown to be rather low (Bornscheuer *et al.*, 2012; Mak and Siegel, 2014; Röthlisberger *et al.*, 2008; Siegel *et al.*, 2010). Basically, a predicted mutation which would be able to introduce a certain activity is likely to cause structural destabilization and it would require additional stabilizing substitutions to compensate the destabilization. Therefore methods to increase the stability of a protein are of high interest to ensure stability during protein engineering towards new enzymatic activities not found in nature.
Most knowledge is gained from studies in which protein engineering is applied as a tool to further optimize known enzymes. Those enzymes already possess certain interesting properties but do not meet all requirements for a given application and thus have to be adapted. The basic methods to optimize a protein can be classified into two major branches; random experimentally guided evolution, or rational (computer guided)

approaches. However these can also be combined to a semi-rational design or focused evolution which seems to currently be the most promising strategy (Chica *et al.*, 2005).

1.3.1 Directed evolution using high throughput screening (HTS)

Directed evolution of enzymes is the term used for most of the very first methods (Chen and Arnold, 1993; Romero and Arnold, 2009) of protein engineering and can still be superior to current approaches. This strategy is exceptionally suited for new enzymes with no structural data or limited sequence homology (Figure 1-4, left column). However, it is only possible if the experimental setup is efficient enough to allow cost-effective and rapid methodology to analyze a large number of variants. If this prerequisite is met the method can be divided into two steps, the library generation and high throughput screening. The most common method for library generation introduces random mutations throughout the coding gene sequence (epPCR, SESAM, PACE, mutator strain *E. coli* XL-1 red) or randomize a set of genes by shuffling techniques (Esvelt *et al.*, 2011; Harayama, 1998). The libraries are then screened for improvements using high-throughput screening (HTS) methods. Several methods are available depending on the properties which are being screened, for example agar plate assays (color/halo formation, artificial selection pressure), FACS (Santoro and Schultz, 2002), or automated liquid handling (Boersma *et al.*, 2007). In most cases directed evolution involves several iterative rounds to accumulate beneficial mutations (Jaeger and Eggert, 2004; Turner, 2003).

1.3.2 Rational design

Rational design (Figure 1-4, right column) strives to predict optimized protein variants by applying available data and computational calculations to predict specific mutations or chimeric genes (Damborsky and Brezovsky, 2014; Shanmugaratnam *et al.*, 2012; Steiner and Schwab, 2012b). The interest in this field has increased with the availability of numerous protein structures from X-ray crystallography, sequence data and supercomputing resources. Unlike directed evolution, this method is advantageous if the enzyme activity prohibits HTS methods due to high background in enzymatic activity, costly substrates or complex analytics. In some cases the predictive models were used to design completely new enzyme activities by *de novo* design. These activities not found in natural enzymes are designed by modelling the transition state and the required

geometry into suitable protein scaffolds (Frushicheva *et al.*, 2014). However, there are only few examples with low activity which are promising for future applications of these methods (Korendovych and DeGrado, 2014; Röthlisberger *et al.*, 2008; Siegel *et al.*, 2010). One example introduced triose phosphate isomerase activity into a receptor protein by predicting 22 mutations which yielded in an k_{cat} of 0.18 s^{-1} and K_M of 140 µM which means an increase in efficiency of about 10^5 to 10^6 compared to the spontaneous reaction (Dwyer *et al.*, 2004).

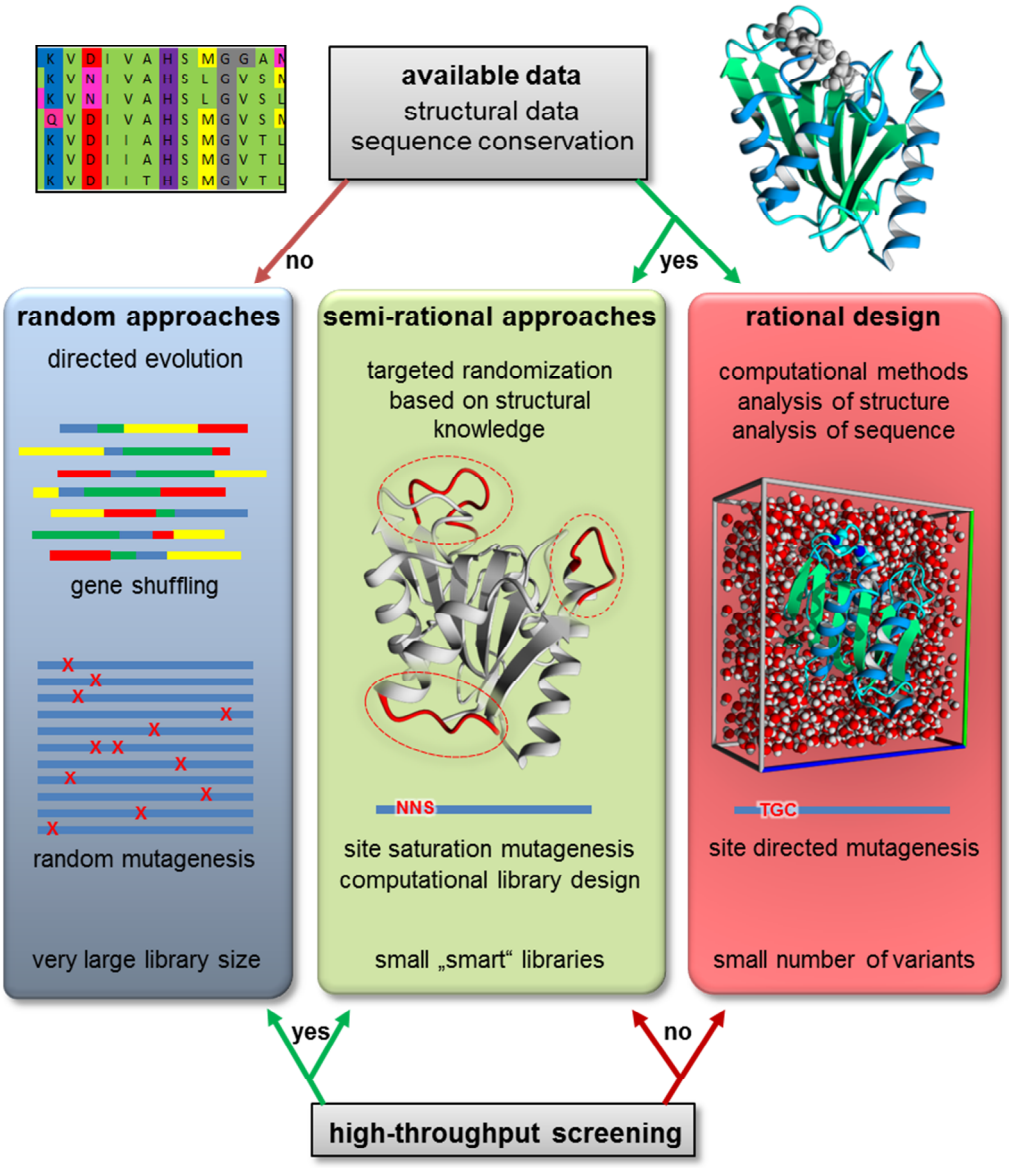


Figure 1-4 Overview of current approaches in protein engineering (modified from Steiner and Schwab, 2012).

This scheme shows how the most suitable approaches are selected based on the availability of structural and biochemical data and high throughput screening (HTS). The random approaches (blue) are often referred to as a directed evolution using multiple rounds of random mutagenesis. Rational design (red) is exactly the opposite, it aims to predict the best variants with only minimal need for lab experiments. The majority of current approaches are based on a mixture of these two (green), which leads to smaller libraries through the mutation of most likely positions of the enzyme, chosen on the basis of available data.

1.3.3 Semi-rational approaches

The majority of recent protein engineering studies apply a diverse range of 'semi-rational' approaches to optimize enzymes with at least a basal activity (Figure 1-4, middle column). Those approaches use available knowledge from experimental data to rationally limit the library size (Turner, 2009). This usually leads to smaller "smart libraries" with a higher probability of the desired improvements (Lutz and Patrick, 2004; Reetz *et al.*, 2008). The sites are selected on the basis of sequence homologies (Vazquez-Figueroa *et al.*, 2008), or structural features (Boersma *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2014; Yedavalli and Rao, 2013). Prominent structural features are binding pockets (Morley and Kazlauskas, 2005; Reetz *et al.*, 2005) protein-interfaces (Bosshart *et al.*, 2013) and the B-factor from crystal structures as a measure of residue mobility (Blum *et al.*, 2012; Gumulya and Reetz, 2011). Library sizes can also be reduced to certain amino acid exchanges with a defined degeneracy of the primer sequences used for the mutagenesis (van Leeuwen *et al.*, 2012; Lippow *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2012).

Another type of semi-rational methods relies on a combination of different methods to increase the number of positive hits (Hayes *et al.*, 2002).
A very interesting example with this strategy replicated the evolutionary process from the PBP2X DD-transpeptidase (MX1) from *Streptococcus pneumoniae* to an enzyme with β-lactamase hydrolase activity (Peimbert and Segovia, 2003). It was known that this requires an evolutionary intermediate with a broadened substrate range (Matsumura and Ellington, 2001), so that several simultaneous substitutions had to be introduced. Three substitutions were identified by a combination of rationally chosen sites for saturation mutagenesis in conjunction with additional random mutations from epPCR, which led to a mutant able to convey antibiotic resistance.
Another example of an efficient combination of epPCR, DNA shuffling and site saturation mutagenesis in the working group of Reetz and coworkers was able to increase enantioselectivity of the *Pseudomonas aeruginosa* lipase from E = 1.1 (wild type) to E = 51 (Reetz, 2004). The same lipase was later used in a 'Combinatorial Active Site-Saturation Test' (CASTing) that was able to broaden the substrate range as determined by the hydrolysis of eleven different *para*-nitrophenyl ester substrates (Reetz *et al.*, 2005, 2006).

The truly rational prediction of protein stability and activity remains difficult, most of the current successful methods extrapolate from large scale experimental data sets (Khan and Vihinen, 2010; Magliery *et al.*, 2011; Potapov *et al.*, 2009). The FoldX energy function is a very prominent example based on a database of 1,088 single site substitutions to develop and refine the algorithm (Guerois *et al.*, 2002). The training dataset consisted of a subset of 339 thermo stabilizing variants of various proteins and was verified against the remaining 749 variants of the database. The resulting algorithm is now an accepted tool for the prediction of amino acid exchanges (see for example Bershtein *et al.*, 2006; Christensen and Kepp, 2013; Tokuriki *et al.*, 2007).

Another very prominent approach to accumulate empirical results is the 3DM database, which uses a combination of tools to gather the available data across super families of proteins (Joosten, 2007; Kourist *et al.*, 2010). The protein which is entered as query is aligned based on structural and sequence homology to also include similar sequences. All of the obtained sequences are then used for a search within the available literature for reports of single site mutants. The search algorithm also extracts the associated keywords and presents the results in an online accessible database. The database can be systematically analyzed towards various properties reported with the substitution, along with the original article. The results can be viewed as sequence alignments, as well as structural alignments using the molecular viewer YASARA (Krieger *et al.*, 2004).

However, there is still a great demand towards new biocatalysts isolated from organisms or metagenome libraries, already adapted to harsh environmental conditions, which seems to be still more feasible than the attempt to further optimize existing proteins (Lailaja and Chandrasekaran, 2013; Li *et al.*, 2014; Nacke *et al.*, 2011; Wemheuer *et al.*, 2013). This indicates that the available data is often not comprehensive enough for a reliable prediction.

1.4 Aim of this thesis

This thesis aims at extending the available empirical data through a systematical analysis of the effect of every possible amino acid substitution in a model protein. Enzymes are now being used for the catalysis of various reactions in a steadily increasing field of biotechnology with a demand towards a better understanding how to rationally increase the efficiency and specificity of the reactions. Thus far, there is no comprehensive study of the full available mutational landscape with every possible single amino acid substitution in one protein. Unlike other databases that contain the

aggregated results from many different enzymes and methodologies that might not allow a direct comparison, the approach in this study allows a direct comparison between the different variants. Current datasets are usually biased to present only the very best mutant, while the full dataset generated in this work would also contains negative, neutral, and the complete list of positive substitutions. Additionally most commonly the best mutants contain a combination of multiple mutations from several rounds of mutagenesis. In such cases, there is limited or no information on the impact of single amino acid exchanges and alternative substitutions, which impedes the possibilities to deduce the rationales.

The library of the well-studied BSLA should be created and shared with the working group of Prof. Schwaneberg (RWTH Aachen) based on the already well-established model protein BSLA (*B. subtilis* lipase A). As part of the library generation process, this project should explore the possibilities of next generation sequencing techniques to sequence all variants in parallel.

The main focus of this thesis is the use of the variant library to address the influence of each amino acid exchange towards the following aspects:

- Changes in activity and substrate specificity using three different commercial substrates differing in the fatty acid chain length.
- Resistance towards four different classes of detergents (anionic, cationic, zwitterionic, non-ionic).
- Thermal resistance after incubation at a constant temperature

The large dataset of the results should be presented with a focus on general patterns based on amino acid chemical properties and the three dimensional location of mutations. In addition, the contribution of very prominent hydrophobic interactions, h-bonds and salt-bridges should also be discussed. The biophysical characterization of a set of variants with a substitution at potential weak spots (predicted by the group of Prof. Gohlke, HHU Duesseldorf) should be used to validate the results of the thermal resistance screening with the full library.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Chemicals and enzymes

All used chemicals were obtained, in *p.a.* quality from the following companies, unless noted otherwise: Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Deisenhofen, Germany), Carl Roth GmbH + Co KG (Karlsruhe, Germany), Fluka (Steinheim, Germany, today Sigma Aldrich Chemie GmbH), Difco (Detroit, USA)

Enzymes were obtained from Thermo Scientific (Schwerte, Germany) unless noted otherwise.

2.2 Equipment

Equipment	Manufacturer	Specification
autoclave	Webeco, Sint-Truiden, Belgium	Vertical - Autoclave, Model C
	HP Medizintechnik, Oberschleißheim, Germany	VARIOKLAV 400 E
	KSG Sterilisatoren GmbH, Eichenau, Germany	KSG 115 Dampfsterilisator N
automated colony picking	Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA	QPix (Genetix)
CD spectroscopy cuvettes	Hellma GmbH & Co. KG, Muellheim, Germany	Quarzglas SUPRASIL® 110-QS, 1 mm, 350 µl
CD-spectrometer	JASCO Germany GmbH, Groß-Umstadt, Germany	J-810 Spectropolarimeter
centrifuge	Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany	Mikro 200, for 1,5 ml and 2 ml centrifugation tubes
chemiluminescence documentation	Raytest Isotopenmessgeräte GmbH ,Straubenhardt, Germany	Stella 3200 Imaging System
disposable cuvettes	BRAND GMBH + CO KG, Wertheim, Germany	Plastibrand® 1,5 ml halbmikro
dry block heater	Eppendorf, Hamburg, Germany	Thermomixer comfort
	DITABIS - Digital Biomedical Imaging Systems AG, Pforzheim, Germany	MKR 23 Cooling-ThermoMixer with BT 03
DSC micro calorimeter	TA Instruments Unternehmensbereich Waters GmbH, Eschborn, Germany	Nano DSC model 6300
gel documentation	Stratagene GmbH, Heidelberg, Germany	Eagleeye II UV-light imaging system
gel electrophoresis cell	Bio-Rad Laboratories GmbH, Muenchen, Germany	Sub-Cell GT Cell
incubation hood	LTF Labortechnik GmbH & Co. KG, Wasserbug, Germany	RCS-550 with cooling option
lab scale	Sartorius AG, Goettingen, Germany	LC 6200 D

Equipment	Manufacturer	Specification
liquid handling platform	Tecan Group AG, Männedorf, Switzerland	Freedom EVO® 200
magnetic stirrer	IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany	RCT basic
	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Germany	MR 2000
microplate reader	Tecan Group AG, Männedorf, Switzerland	Infinite M1000 PRO
	Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA	Spectramax 250
	Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA	Spectramax PLUS (with cuvette holder)
microplate 384 well	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany	PP-Microplate, 384 Well, F-bottom
microplate 96 well	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany	PP-Microplate, sterile 96 Well, F-bottom
microplate centrifuge	Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany	Rotanta 460 R + 5264 Rotor (4 x1000 g)
microplate sealing tape	VWR International GmbH, Darmstadt, Germany	Aluminium foils, sterile, 38 µm
microplate incubator	LTF Labortechnik GmbH & Co. KG, Wasserbug, Germany	Microplate Shaker TiMix 5
pH electrode	Nordantec GmbH, Bremerhaven, Germany	pH Elektrode pH 0-14, 0-60 °C, IJ44
pH meter	Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG, Berlin, Germany	Labor-pH-Meter 766
pipettes	Eppendorf, Hamburg, Germany	Research, Research pro, and Xplorer
power supply	GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg, Germany	EPS 601 Power Suppy
realtime PCR cycler	Applied Biosystems by Life Technologies GmbH, Darmstadt, Germany	7900 HT fast with 384-Well Block Module
SDS-PAGE system	Bio-Rad Laboratories GmbH, Muenchen, Germany	Mini Protean II Dual Slap Cell
shaking incubator	Infors AG, Bottmingen, Switzerland	Multitron Standard
special accuracy scale	Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Germany	NewClassic MS
sterile workbench	Thermo scientific, Waltham, Massachusetts, USA	Herasafe KS
thermocycler	Eppendorf, Hamburg, Germany	Mastercycler ep gradient "S"
	Eppendorf, Hamburg, Germany	Mastercycler gradient
ultrapure water filtration	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	Milli-Q Advantage
UV light table	Bio-Budget Technologies GmbH, Krefeld, Germany	my-Budget Standard-UV-Leuchttisch, 6 x 8W
vortex mixer	IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany	VF2 vortex mixer

2.3 Bacterial strains and plasmids

Table 2-1 List of bacterial strains and genotype

Name	Genotype	Reference
***E. coli* DH5α**	F^-, φ80Δ*lac*ZM15, Δ(*lac*ZYA-*argF*)U169, *deoR*, *recA*1, *endA*1, *hsdR*17(rk^-, mk^+), *phoA*, *supE*44, λ^-, *thi*-1, *gyrAB*, *relA*1	(Hanahan, 1983)
***E. coli* BL21(DE3)**	F^-, ompT, $hsdS_B(r_B^-m_B^-)$, gal, dcm, λ(lts857, indI, Sam7, nin5, lavUV5-T7gene1)	(Studier *et al.*, 1986)
***B. subtilis* TEB 1030**	*his, nprE, aprE, bpf, ispI, lipA, lipB*	(Eggert *et al.*, 2001)

Table 2-2 List of plasmids and inserts

Name	Insert	Reference
pBSMul1	*ColE*1, *repB*, Km^r, Amp^r, P_{HpaII}	Brockmeier, 2006
pBSMul1lipAsslipA	pBSMul1 with *lipA* from *B.subtilis* and the *lipA* secretion signal in the MCS	Skoczinski, 2012
pBSMul1*lipA*Δss	pBSMul1 with *lipA* from *B.subtilis* in the MCS	Skoczinski, 2012
pET22b(+)	ColE1, P_{T7lac}, Amp^r, *pelB*, His_6-tag, *lacI*	Novagen, Madison, USA
pET22lipA(pelB)	pET22b(+) with *pelB-lipA*-fusion in the MCS	Eggert, 2001
pET28b(+)	ColE1 P_{T7lac} Amp^r	Novagen, Madison, USA
pET28lipA(pelB)	pET22b(+) with *pelB-lipA*-fusion	Eggert, 2001
pBSlipA	pBSMul1lipAsslipA with a deletion of the *Eco*RI restriction site	this study
pET22lipAΔss	pET22b(+) with His_6-tag-*lipA*-fusion in the MCS	this study

2.4 Oligonucleotides

All oligonucleotides were obtained from MWG Eurofins (Ebersberg) or Sigma-Aldrich (Deisenhofen) purified using a reverse phase chromatography and shipped as a lyophilisate. The lyophilisate was dissolved in *aq. dest.* to achieve a final concentration of 10 pmol*μl^{-1} and stored at -20 °C.

Table 2-3 List of oligonucleotides

primer name	sequence (5'-3')	comment
LipAΔ*Eco*RI_fw	AGCAAAAGCCGCTGAACACAATC	site directed PCR to remove the *Eco*RI site in pBSMul1*lipAsslipA*
LipAΔ*Eco*RI_rv	GATTGTGTTCAGCGGCTTTTGCT	

Oligosequences used for the site saturation, and the site directed mutagenesis of all positions, including those which were generated in the working group of Prof. Ulrich Schwaneberg (RWTH Aachen) are listed in the appendix of this study.

Oligosequences used to generate the amplicon sequences for the IonTorrent sequencing reaction are also listed in the appendix of this study.

2.5 Kits

Plasmid extraction and PCR clean up were performed with Kits obtained from Analytik Jena (Jena, Germany). Isolation of plasmid DNA is prepared by using the innuPREP Plasmid Mini Kit (Analytik Jena, Jena, Germany) according to manufacturer's instructions. For isolation of plasmid DNA from *B. subtilis* the cells are pretreated in the provided resuspension buffer after addition of 100 µg lysozyme (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Germany) for 30 min at 37 °C, in order to increase cell lysis.

The peroxide concentration in detergent solutions was periodically tested with the quantitative peroxide assay kit purchased from Thermo Scientific (Waltham, Massachusetts, United States), according to manufacturer's instructions.

2.6 Buffer

KP$_i$ Buffer (50mM, pH 7): 39 ml KH_2PO_4 - Stock (0.5 M), 61 ml K_2HPO_4 - Stock (0.5 M), ad 1000 ml *aq. dest.*,autoclaved at 121 °C, 20 min and stored at RT.

Tris-HCl Buffer (100mM, pH 7): 100mM Tris base, pH was adjusted to pH 7 with HCl.

2.7 Microbiological methods

2.7.1 Cultivation and storage of bacteria

E. coli was incubated after inoculation of LB-media or streaked onto LB-agar plates and incubated at 37 °C if not stated otherwise. All overnight cultures were cultivated for the duration of 16 h, at 150–180 rpm in Erlenmeyer flasks or 900 rpm in microtiterplates.
E. coli and *B. subtilis* cells grown on agar plates were stored at 4 °C or RT. For long term storage, liquid culture was mixed with DMSO (8 % v/v final concentration) and stored at -80 °C.
For selection the culture media was supplemented with antibiotics (50 µg*ml^{-1} kanamycin or 100 µg*ml^{-1} ampicillin) depending on the resistance marker of the plasmid.

LB-Media: 10 g Tryptone, 10 g NaCl, 5 g yeast extract, ad 1000 ml *aq. dest.*, adjusted to pH 7,5 with NaOH, autoclaved at 121 °C, 20 min and stored at RT.
1.25 x TB-Media: 12 g Casein, 24 g yeast extract, 5 g glycerol, ad 800 ml *aq. dest.*, autoclaved at 121 °C, 20 min and stored at RT.
Autoinducing media: 800 ml TB-media (1.25 x), 100 ml lactose (20 g*L^{-1}), 90 ml KP_i-Buffer pH 7 (1 M), 10 ml glucose (50 g*L^{-1}), stored at 4 °C.
LB agar: 15 g agar, ad 1000 ml LB-media.

2.7.2 Electroporation of *Escherichia coli* DH5α (modified according to Sambrook and Russel, 2001)

500 ml LB-media without antibiotics was inoculated with 5 ml of an overnight culture (37 °C, 16 h) of *E. coli* DH5α. The main culture was incubated (37 °C, 150 rpm) to an $O.D._{580nm}$ between 0.5 and 0.7. The culture was chilled 20 min on ice and centrifuged (15 min, 2790 *x*g, 4 °C). The pellet was washed three times by resuspension of the cell pellet after centrifugation (15 min, 2790 *x*g at 4 °C) in 10 % (v/v) ice-cold glycerin. Beginning with a volume equal to the main culture volume the volume was reduced in each step to ½ of the volume, down to 20 ml in the third step. The final pellet was resuspended in 2 ml 10 % (v/v) ice-cold glycerin, divided into 50 µl aliquots, and stored at -80 °C. For transformation, a DNA suspension and a cell aliquot were mixed in a 2 mm electroporation cuvette (BioBudget, Krefeld, Germany). After electroporation (12.5 kV*cm^{-1}, 5 ms pulse) with a MicroPulser electroporation unit from BioRad (Munich, Germany), 1 ml of LB-media was added and cells are incubated under mild agitation

without selection marker. The incubation time depended on the time required for expression of the selection marker genes (20 min for Amp^r, 2 h for Kan^r) after which the cells were spread on to a LB-agar plate.

Glycerin (10 %):100 ml glycerin, 900 ml *aq. dest.*, autoclaved at 121 °C, 200 kPa, 20 min and stored at 4 °C.

2.7.3 Chemical transformation of *E. coli* (modified according to Hanahan, 1983)

500 ml LB-media without antibiotics was inoculated with an overnight *E. coli* culture to an $O.D._{580nm}$ of 0.05 and cultivated to an $O.D._{580nm}$ between 0.4 and 0.5 at 37 °C and 120–150 rpm. The culture was chilled on ice for 10 min after which the cells were collected by centrifugation (10 min, 2790 *x*g, 4 °C). The cells were resuspended in 14 ml FB-buffer, incubated 20 min on ice, and centrifuged (10 min, 2790 *x*g, 4 °C). The pellet was resuspended in 3.4 ml FB-buffer, and split into 100 µl aliquots which were then stored at -80 °C.

For transformation, the DNA was dissolved in TE-buffer and added to the cells. The suspension was incubated 20 min on ice, followed by a 90 sec heat-shock at 42 °C in a dry heat block. After the heat shock the suspension was immediately cooled down for 2 min on ice. 700 µl LB-media without selection marker was added and incubated depending on the time required for expression of the selection marker gene (20 min for Amp^r, 2 h for Kan^r) before it was streaked on to a selective LB-agar plate.

FB-buffer: 7.4 g KCl, 7.5 g $CaCl_2$,100 g glycerin, 10 ml 1 M potassium acetate (pH 7.5), ad 1000ml *aq. dest.*,autoclaved at 121 °C, 200 kPa, 20 min and stored at 4 °C.

2.7.4 Transformation of *Bacillus subtilis* protoplasts

The most effective method for the transformation of *Bacillus subtilis* uses protoplasts that take up DNA induced by polyethylene glycol as described by (Chang and Cohen, 1979). The cells are carefully handled to allow regeneration of the cell wall. The full procedure was performed as follows.

A single colony of *Bacillus subtilis* TEB1030 was incubated in 5 ml 1 x PAB media (baffled shaking flask) overnight at 37 °C, 100–120 rpm. 1.5 ml of the preculture were transferred into 60 ml 1 x PAB media (baffled shaking flask) and incubated to an $O.D._{580nm}$ = 0.5–0.7 at 37 °C, 100–120 rpm. The cells were harvested (10 min, 5000 rpm,

in falcon tubes), resuspended in 5 ml SMMP media and transferred into a 15 ml Falcon tube. 100 µl Lysozyme (100 mg*ml^{-1} in *aq. dest.*) was added, and the suspension was incubated for 2 h at 37 °C in a rolling tube mixer. The protoplasts were transferred into a 50 ml falcon tube for centrifugation (15 min, 3000 rpm, 4 °C), washed once, and resuspended in 5 ml SMMP media. The final preparation was stored at room temperature (stable for at least 5 h).

For transformation 0.5 ml of the protoplasts and 100 µl of DNA (1 pg - 5 µg in 50 µl TE buffer + 50µl 2 x SMM media) were mixed in a 15 ml falcon tube. Subsequently, 1.5 ml PEG solution was added, mixed gently and incubated for 2 min. The exposure to PEG was stopped by adding 5 ml SMMP media and recovery of the protoplasts by centrifugation (15 min, 2500 rpm). The transformed protoplasts were resuspended in 1 ml SMMP and incubated for 2 h at 30 °C in a rolling tube mixer. 400 µl and 600 µl spread onto DM3 agar with 500 µg*ml^{-1} kanamycin (10 x the usual concentration because of a reduced potency due to succinic acid (Jandová and Tichý, 1987)) and incubated 48 h at 37 °C.

4 x PAB (Penassay broth): 70 g Bacto-Antibiotic Medium 3 (Difco resold by BD, Heidelberg, Germany), ad 1000ml *aq. dest.*, autoclaved at 121 °C, 200 kPa, 20 min.
2 x SMM: 0.5 M Sucrose, 0.02 M maleic acid, 0.02 M $MgCl_2$ adjusted to pH 6.5 with NaOH, autoclaved separately at 121 °C, 200 kPa for 20 min.
SMMP: equal parts of SMM (2 x) and PAB (4 x).
PEG solution: 40g PEG, 50 ml 2 x SMM, ad 100 ml *aq. dest.*, autoclaved at 121 °C, 200 kPa, 20 min.
TE-buffer: 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8.
autoclaved seperately (121 °C, 200 kPa, 20 min) and combined, stored at RT.
DM3-Agar: 200 ml agar (40 g*l^{-1}), 100 ml K_2HPO_4 (35 g*l^{-1}) / KH_2HPO_4 (15 g*l^{-1}), 20 ml $MgCl_2$ (203 g*l^{-1}), 50 ml Difco casaminoacids (50 g*l^{-1}, BD, Heidelberg, Germany), 50 ml yeast extract (100 g*l^{-1}), 30 ml glucose (200 g*l^{-1}), 500 ml succinic acid (118 g*l^{-1} ,pH 7,3 with NaOH) were autoclaved seperately at 121 °C, 200 kPa, 20 min. All solutions were prewarmed to 60 °C and combined together with 5 ml bovine serum albumin (20 g*l^{-1} ,sterile filtered) and poured into culture plates.

2.8 DNA methods

2.8.1 Agarose gel electrophoresis of nucleic acids

Agarose gel electrophoresis for DNA analysis and DNA isolation was carried out according to (Vogelstein and Gillespie, 1979). Prior to the gel electrophoresis the samples were diluted with 0.2 volumes of DNA sample buffer. Gene Ruler 1 kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, United States) was used a molecular weight standard. Depending on the expected size of the analyzed DNA the agarose gels were prepared in concentrations between 0.8 and 2 % (w/v). 0.5 x TBE buffer was used for electrophoresis and gel preparation. DNA was visible under UV-light (λ = 254 - 366 nm) due to a visible emission of the DNA double strand intercalating ethidium bromide (EtBr) at 590 nm. The Eagleeye II UV-light imaging system from Stratagene (Heidelberg, Germany) was used for visualization and documentation.

TBE-buffer: 89 mM Tris, 89 mM borate, 2.5 mM Na_2-EDTA, adjusted to pH 8.3.
sample buffer: 100 mM Na_2-EDTA, 43 % (v/v) glycerin, 0,05 % (w/v) bromophenol blue.
EtBr: 0.5 % (v/v) in aq. dest, 10 µl were directly added into the gel.

2.8.2 Microplate-array diagonal-gel electrophoresis (MADGE) of amplicon sequences

In the collaboration for this thesis 181 BSLA saturation mutagenesis sites resulted in one microtiterplate of clones per site. To test the possibilities of using barcodes to sequence all samples in parallel, every clone was submitted to two PCR rounds with combinations of primers that would allow a reconstruction of the sample origin. Since the current version of IonTorrent sequencing only allows read of up to 400 bp the BSLA sequence was subdivided into 4 blocks (codons 1-44, 45-90, 91-135, 136-180) to generate 132 bp fragments ('amplicons') covering the site that was targeted by saturation mutagenesis. Together with the barcode sequences this resulted in sequences of 245 bp. During this first amplification every clone was labelled with a combination for one out of seven different forward and one out of seven different reverse barcodes (= 49 combinations) which would later specify from which plate the read originated. This PCR was realized as a colony-PCR directly from the frozen cryo culture using a cost effective master mix containing an in house produced *Pyrococcus furiosus* polymerase (Lundberg *et al.*, 1991) complemented with a fluorescent DNA binding dye (Nancy-520, Sigma Aldrich, see methods 2.8.7) to monitor the PCR by fluorescence (Armstrong and Panzer, 1972).

Following this first PCR a set of two additional primer sequences was added for the second PCR step. These primer sequences contained one of twelve barcodes encoding the column and one of eight barcodes encoding the row of each sample, effectively resulting in four barcodes per amplicon indicating the plate- and well number of each read (Primer sequences are provided in the Appendix).

For sequencing, all samples had to be pooled in approximately similar ratios to avoid overrepresentation of certain sequences that had a high yield in one of the two PCR rounds over sequences with a low yield. Due to the contamination with cell debris, dNTPs and fluorescent dyes the most suitable method for a rough estimate would have been an agarose gel. In consideration of the sample size instead of an agarose gel the samples were applied to an 7.5 % polyacrylamide microtiter array diagonal gel electrophoresis (MADGE) with 384 wells as described by (Gaunt, 2003) adhered to a silanized glass plate. Glass plates were silanized by wiping one surface with 3-(Trimethoxysilyl)propyl-methacrylate. The gel was casted into a custom 3D printed polyamide comb designed with FreeCAD v0.13 (open source, GNU Lesser General Public License) shown in Figure 2-1. The model of the comb was 3D printed from polyamide filament (Materialise NV, Leuven, Belgium).

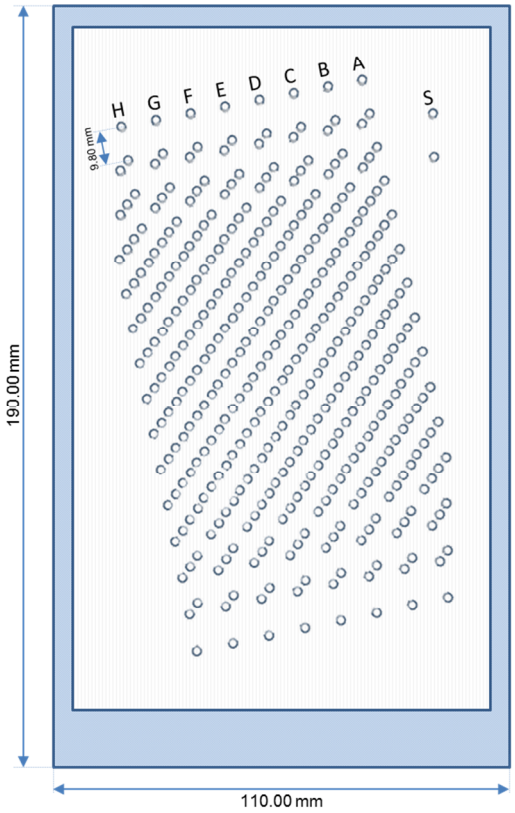


Figure 2-1 Representation of the CAD object used to print the polyamide comb for gel casting.

In alteration to the comb used by (Gaunt, 2003), two additional wells were inserted for a separate marker (S), the acrylamide solution was poured into the comb and sealed with a silanized glass plate to which the gel adhered after polymerization. The overall comb was 6.5mm high, each well has a volume of 2 mm^3. The four 96 well arrays are tilted by 11.3° to allow a track length of 9.8 mm (2 mm wide).

The filled comb was carefully sealed to avoid air encapsulation with the glass plate and incubated at room temperature for 20 min after which the glass plate with the gel was removed and submerged with buffer in a gel electrophoresis tank filled with 0.5 x TBE

buffer. Each PCR sample was mixed with 0.2 volumes of DNA sample buffer in a MTP and 2 µl of the sample mixture was applied to the gel using a 12 channel pipette and 1 µl of GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder 100 to 3,000 as molecular weight standard. The electrophoresis tank was close and the DNA samples were separated according to their size by applying 100V for 30 min. The Eagleeye II UV-light imaging system from Stratagene (Heidelberg, Germany) was used for visualization and documentation of EtBr stained DNA (Figure 2-2A). The intensities were found to indicate comparable band intensities as smaller agarose gels (Figure 2-2B).

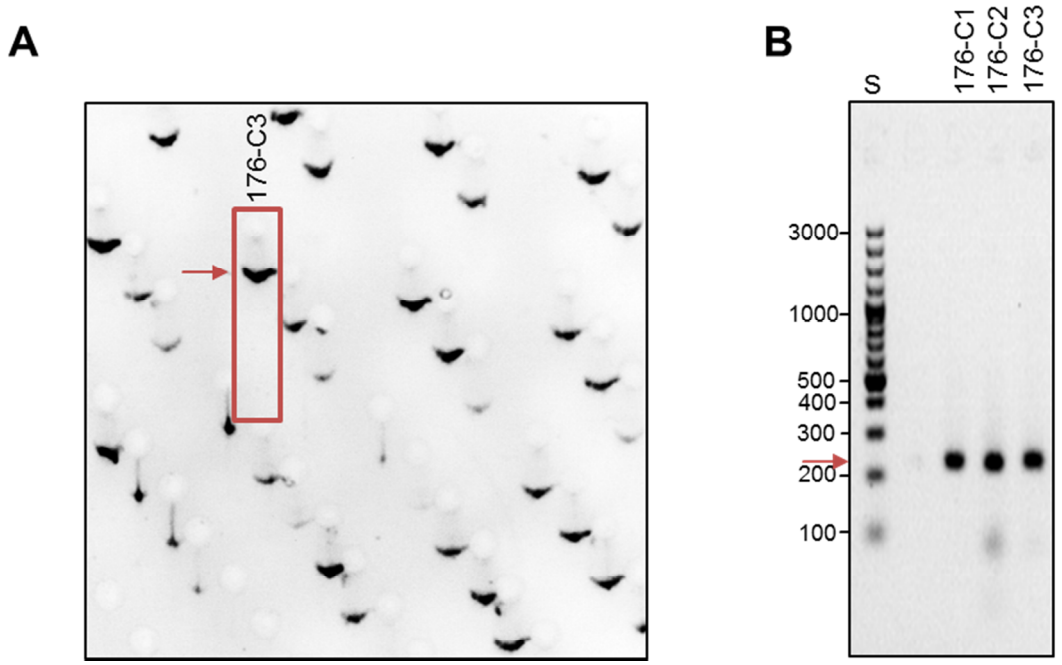


Figure 2-2 DNA electrophoretic analysis of samples from amplicons of libraries for AA position 176 stained with EtBr.

(A) MADGE 7.5% polyacrylamide gel, as well as on an (B) agarose gel with three amplicons from plate 176, 1.5% agarose gel, 25min 200V, stained with ethidium bromide. S = standard (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder 100 to 3,000 bp). One lane in the array is highlighted with a red rectangle; the position of the 245 bp amplicon is indicated by red arrows.

7,5 % polyacrylamide gel mix: 1.6 ml 37 % acrylamide, 6.2 ml TBE pH 8.3 (0.5 x), 3 µl 0.5 % (v/v) EtBr, 100 µl 10 % (w/v) APS, 10 µl TEMED.
DNA sample buffer: 100 mM Na_2-EDTA, 43 % (v/v) glycerin, 0.05 % (w/v) bromophenol blue.

2.8.3 Standard polymerase chain reaction (PCR)

Amplification of DNA-fragments was performed under standard PCR-conditions in a reaction mix containing a DNA template (~1 ng), primer oligonucleotides (each 50 pmol), dNTP's (0.2 mM each), Phusion-Polymerase (1 U), GC-Buffer (1x) and 1 % DMSO (v/v).

The PCR-Cycler was set to the following program: 1 x (5 min 98 °C); 30 x (30 sec 98 °C; 30 sec 58 °C; 30 s to 3 min 72 °C, depending on the length of target gene), 1 x (7 min 72 °C). The PCR was performed using a Mastercycler Gradient (Eppendorf, Hamburg, Germany). The resulting PCR-products were purified by gel extraction using the QIAEX II kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to manufacturer's instructions.

2.8.4 Site directed and site saturation mutagenesis (SDM/SSM)

The site saturation PCR was based on a modified two stage protocol as described by (Edelheit *et al*., 2009). All PCR primers were generated to match up- and downstream of the codon that was targeted and replaced by an NNS motif (Table 6-1). Amino acid substitutions, that were not achieved by site saturation mutagenesis were generated by site directed mutagenesis with primers that instead of the degenerated NNS-codon carry the preferred codon for *E.coli* K12 strains for the amino acid substitution that had to be generated (Table 6-2). The amplification was carried out in two separate 25 µl reactions containing pET22lipA as template (0.2 ng*μl^{-1}), 0.2 pM of either the forward or reverse primer (Table 6-1), dNTPs (0.2 mM), DMSO (1 % v/v) and Phusion® polymerase (1 U) in Phusion® GC-buffer (1 x containing 7.5 mM $MgCl_2$). The PCR cycler was set to conditions as follows: initial denaturation at 98 °C for 10 min followed by 23 cycles of 98 °C for 1min, 55 °C for 1 min and 68 °C for 3.5 min followed by one final elongation at 68 °C for 7 min. The PCR was paused after 5 cycles to combine the forward and reverse primer reaction and continued for the remaining 18 cycles. Methylated template DNA was hydrolyzed with *Dpn*I (30 U) for 16 hours at 37 °C, the reaction was stopped 20 min at 75 °C. The product was concentrated and desalted using a PCR clean up kit (see 2.5) and transformed into electro competent *E. coli* DH5α (see 2.7.2) for multiplication of the site saturation mutagenesis product, spread onto LB-Agar plates. The plasmid DNA was isolated (see 2.5) and transformed into chemically competent *E. coli* BL21(DE3) (see 2.7.3). For each of the 90 codon position libraries (positions 91–181), 92 transformants were picked into the main MTP library (QPix colony picking robot, Molecular Deices), the other wells were used for three wild type (well numbers A12, D7, H1) and one empty vector control (well E6). The controls were not picked by the picking robot, instead the pins were removed so that these wells were kept sterile, and the controls were manually added afterwards. Another ten clones were picked and sequenced before the complete library was sequenced to ensure success of the site saturation mutagenesis. All missing substitutions were generated by site directed mutagenesis using the same protocol with

exception of directed instead of the degenerated primer sequences as described above. All of the site directed variants were stored in a separate MTP-library with five biological replicates of each variant. The other half of the BSLA (positions 1–90) was mutated in the lab of the working group of Prof. Ulrich Schwaneberg (RWTH Aachen), and exchanged between the two groups. In those libraries the controls are located in different wells (wild type in A1, D6, H12; empty vector in E7).

2.8.5 *In vitro* recombination of DNA

Hydrolysis, dephosphorylation and ligation reactions (Smith and Birnstiel, 1976; Dugaiczyk *et al.*, 1975) were performed using enzymes and buffers from Thermo scientific (Waltham, Massachusetts, United States) under conditions recommended by the manufacturer.

2.8.6 DNA-Sequencing

DNA sequencing acoording to the method of was performed by LGC genomics (Berlin, Germany), Sequiserve (Vaterstetten, Germany), MWG Eurofins (Ebersberg, Germany), and GATC Biotech AG (Konstanz, Germany) in single tube and microtiterplate format.

2.8.7 NextGen IonTorrent sequencing

The sequencing of all samples by means of next generation sequencing technologies was carried out in a multiplex library, similar to the approach described by (Kozarewa and Turner, 2011) which used Illumina sequencing. The amplicon sequences were amplified with primer sequences which allowed the combination of different 10 bp DNA sequences to code for the site saturation position (56 barcodes), column (12 barcodes) and row (8 barcodes) of each sample (see Table 6-3 for primer sequences). The first PCR was carried out with a modification of the standard procedure as described in 2.8.3. 1–3 µl of culture from each library were transferred into a 384-well PCR plate and Pfu-polymerase with its corresponding reaction buffer was used instead of Phusion, which also required to reduce the elongation temperature to 68 °C. The PCR reaction was monitored in real time by adding 1 x Nancy 520 (Sigma Aldrich) with a real time PCR cycler (7900HT, Applied Biosystems) with filters set to 532 nm excitation and 580 nm

emission. 1 µl of the first PCR was used for the second PCR with a master mix without fluorescent dye. The success of the second PCR was analyzed using 384 well MADGE (2.8.2) and pooled according to the intensity of the band (1–10 µl). In order to remove excess primer from the final pool of all reactions, electrophoresis was performed on a 1 % agarose gel (2.8.1), bands were cut out in a region between ~200–300 bp and subsequently purified using the Qiagen Gel Purification Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to manufacturer's instructions. Purified samples were pooled and sequenced on an IonTorrent PGM (Life Technologies, Carlsbad, USA) using the Ion PGM 200 Sequencing Kit and the Ion 314 Chip Kit (Life Technologies, Carlsbad, USA) at the BMFZ (Biologisch-Medizinisches Forschungszentrum, Heinrich Heine University, Duesseldorf, Germany).

2.9 Protein methods

2.9.1 Measurement of protein concentration

The protein concentration was measured using the Micro BCA protein assay reagent (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, United States) in a MTP format with bovine serum albumin in concentrations of 25 - 2000 µg*mL^{-1} as a standard (Smith *et al.*, 1985) according to manufacturer's recommendations. The sample purity was analyzed by SDS-PAGE (see 2.9.2).

Alternatively protein concentration was measured by absorption at 280 nm on a NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, United States) with 3 µl sample. The $O.D._{A280}$ was used to calculate the protein concentration using the extinction coefficient of ε = 24,410 $M^{-1}*cm^{-1}$ for BSLA (MW = 19.3 kDa) as calculated by the "ProtParam" tool (Gasteiger and Hoogland, 2005) and the Lambert-Beer (Beer, 1852; Lambert, 1760) law ($A = \varepsilon*c*l$; A = Absorption, ε = extinction coefficient, c = molar concentration, l = path length).

2.9.2 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

The separation of proteins according to their molecular weight was accomplished by SDS-PAGE (Laemmli, 1970). Denaturing conditions were achieved in the presence of SDS in a discontinuous gel system. Samples were resuspended in SDS-PAGE sample buffer, boiled for 10 min at 99 °C and loaded onto a 5 % stacking and 16 % separation gel. In this process SDS binds in an approximate ratio of 1.35 g per gram of protein (Reynolds and Tanford, 1970). Since SDS is negatively charged this leads to a separation of the proteins according to the associated charge of bound SDS molecules proportional to the mass of the protein.
The electrophoresis was carried out for 45 min at 200V using the „Mini Protean II Dual Slap Cell" (BioRad, Munich, Germany) and 1 x SDS running buffer. "PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder" (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, United States) was used as molecular weight standard. The proteins were fixated and stained with Coomassie Brilliant Blue (Neuhoff *et al.*, 1988) or detected immunologically (see 2.9.3).

SDS sample buffer (2 x): 50 mM Tris-HCl pH 6.8, 4 % (w/v) SDS, 10 % (v/v) glycerin, 2 % (v/v) ß-mercaptoethanol, 0.03 % (w/v) bromphenol blue.
SDS running buffer (10 x): 30.3 $g*l^{-1}$ Tris, 144.1 $g*l^{-1}$ glycine, 10 $g*l^{-1}$ SDS, pH 8.8.
5 % Stacking Gel: 2.8 ml *aq. dest.*, 0.83 ml 37 % (v/v) acrylamide, 1.3 ml Tris-HCl pH 6.8 (0.5 M), 50 µl 10 % (w/v) SDS, 50 µl 10 % (w/v) APS, 5 µl TEMED.
12 % Separating Gel: 3.4 ml *aq. dest.*, 4 ml 37 % (v/v) acrylamide, 2.5 ml Tris-HCl pH 8.8 (1.5 M), 100 µl 10 % (w/v) SDS, 100 µl 10 % (w/v) APS, 10 µl TEMED.
Staining solution: 10 % (w/v) ammonium sulfate, 0.12 % (w/v) Coomassie Brilliant Blue R-250, 1.2 % (v/v) phosphoric acid, 20 % (v/v) methanol.

2.9.3 Immunological detection of BSLA (Western Blot)

Proteins separated with a SDS-PAGE (2.9.2) were electrophoretically transferred at 150 mA for 15 min followed by 300 mA for 30 min onto a polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane in a "Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell" from Bio-Rad (Munich, Germany) in 1 x Dunn carbonate buffer (Towbin *et al.*, 1992). The PVDF membrane was washed in methanol and *aq. dest.* for one minute prior to the protein transfer.
After the transfer, the membrane was blocked with 5 % (w/v) skim milk dissolved in 1 x TBST for 1 h at room temperature or with 3 % (w/v) bovine serum albumin (BSA) in 1 x TBST overnight at 4 °C.
BSLA protein is detected by incubating the membrane with a specific polyclonal BSLA antibody (kindly provided from WJ Quax, Department of Pharmaceutical Biology, Center of Pharmacy, University of Groningen, Netherlands) in dilution of 1:20,000. The BSLA antibody is then bound by a secondary antibody anti-goat-anti rabbit horse radish peroxidase (HRP) conjugation (BioRad, Munich, Germany) in dilution 1: 5,000 in 0.2 % 1 x TBST. Each of the antibodies is incubated for 1 h under mild agitation. In between each of the antibody incubation steps the membrane is washed three times for 5 min with 1 x TBST.
Finally, the activity of HRP was detected by chemiluminescence after applying freshly prepared ECL solutions. The Stella 3200 Imaging System and the Stella X software from Raytest (Straubenhardt, Germany) were used for visualization and documentation.

10x stock solution Dunn carbonate buffer: 3.18 $g*l^{-1}$ Na_2CO_3, 8.40 $g*l^{-1}$ $NaHCO_3$, 20 % (v/v) methanol.
20x stock solution TBS buffer: 60.06 $g*l^{-1}$ Tris-HCl, 175.40 $g*l^{-1}$ NaCl, 2.24 $g*l^{-1}$ KCl.
TBST buffer: 1 x TBS buffer, 0.02 % (v/v) Tween 20.

ECL solution:		
	1 ml	50 mg luminol, 200 ml 0.1 M Tris-HCl pH 8.6, stored at 4 °C.
	100 µl	11 mg *p*-hydroxy coumarate, 10 ml DMSO, stored at RT.
	0.3 µl	30 % (v/v) H_2O_2 solution, stored at 4 °C.

2.9.4 Zymographic esterase activity assay

The zymographic determination of activity yields valuable information about enzyme forms and activity. In this study the supernatant of selected variants was applied to a denaturing SDS-PAGE as described in 2.9.2 . After the SDS-PAGE, the gel was incubated for 1 h in renaturing buffer to allow recovery of the enzyme activity. After this the gel was transferred on to a glass plate and set onto the UV-Light source (λ = 254 - 366 nm) of the Eagleeye II UV-light imaging system from Stratagene (Heidelberg, Germany). 2 ml of substrate solution were spread on to the surface of the gel and esterase activity was visible as an emission of 4-Methylumbelliferon (λ_{ex} 360 nm; λ_{em} 449 nm).

Renaturing buffer: 100 mM Tris-HCl pH 8, 25 % (v/v) 2-propanol.
Substrate solution: renaturing buffer, 5 mM 4-methylumbelliferyl butyrate.

2.9.5 Immobilized metal affinity chromatography (IMAC)

The overexpression of BSLA and the following purification procedure was performed as follows: An aliquot of 50 µl chemically competent *E. coli* BL21(DE3) was transformed with 1 µl of pET22lipAΔss plasmid DNA (see 2.7.3). The cell suspension was transferred into 10 ml selective TB-medium and grown overnight at 37 °C. The main culture was inoculated to an $O.D._{580nm}$ of 0.05 from the preculture and grown in autoinducing medium (see 2.7.1) at 37 °C for 3 h followed by another 72 hours at 15 °C. After centrifugation (45 min, 4 °C, 14.000 *x*g) the pellet was resuspended in lysis puffer according to an $O.D._{580nm}$ of 20. The cells were lysed by passing three times through a French pressure cell at 500 bar and centrifuged (45 min, 4 °C, 14.000 *x*g). The soluble fraction was incubated 30 min under mild agitation with 1 ml Ni^{2+}-NTA Superflow Resin (Qiagen, Hilden, Germany) at room temperature. The resin was then washed with 50 ml of washing buffer on a disposable gravity flow column after which the protein was eluted with elution buffer. The elution buffer contained imidazole which is able to compete with the poly-histidine tag of the protein at the immobilized Ni^{2+} ions in the resin (Porath *et al.*, 1975; Sulkowski, 1985). The His_6-tagged protein was eluted and collected in fractions of 1.5 ml each. The protein concentration of each fraction was measured until the absorption at 280 nm was equal to the elution buffer (see 2.9.1). The fractions with the highest absorption at 280 nm were applied to a disposable PD-10 desalting column (Pall, Dreieich, Germany) according to manufacturer's instructions to remove imidazole and

transfer the enzyme into the storage buffer. The protein concentration of the purified sample was measured using the Micro BCA protein assay reagent (see 2.9.1).

lysis buffer:	50 mM NaH_2PO_4, 300 mM NaCl, adjusted to pH 8.
washing buffer:	lysis buffer, 20 mM imidazole.
elution buffer:	lysis buffer, 250 mM imidazole.
storage buffer:	10 mM glycine, adjusted to pH 11.

2.9.6 Differential scanning calorimetry (DSC)

DSC uses a high precision calorimeter to measure the difference in the heat flow rate between a protein sample and a reference while the protein is thermally denatured (Sánchez-Ruiz *et al.*, 1988). The high sensitivity allows a direct measurement of the absorbed heat during thermal denaturation of the protein. DSC measurements were always performed with fresh protein preparations in a Nano DSC Microcalorimeter (TA Instruments) in 50 mM Kp_i pH 8. Before measurement all samples were degassed extensively. The presence of any residual protein in the sample capillary was analyzed by filling both capillaries with water to perform a water/water scan prior to every measurement. All DSC measurements were performed in between 20 °C and 90 °C with a heat rate of 0.5 °C/min. The protein/buffer scans were corrected with a buffer/buffer base line scan. The resulting data was normalized for protein concentration with NanoAnalyze software Version 2.4.1 (TA Instruments, New Castle, United States) to determine the baseline and calculate ΔH, ΔS and Tmax.

2.9.7 Circular dichroism (CD) spectroscopy

CD spectroscopy measures the difference in absorption of left- and right-handed polarized light due to structural properties of the sample. Depending on the content of α-helices, β-strands, and random coil structures the shape and magnitude of the CD spectrum contains positive and negative signals, while irregular structures (unfolded proteins) result in zero CD intensity.

The CD spectrum was obtained with a JASCO J-810 spectrophotometer and a 1 mm quartz glass cuvette with 300 µl of 0.3 $mg*ml^{-1}$ protein. The measurement was always performed with freshly purified protein consecutive to the purification as described in 2.9.5 . The protein was diluted with 10 mM Kpi pH 7 resulting in a pH of 8.18 as

described below. The far-UV CD spectra (190–280 nm) was recorded under nitrogen flow, experimental conditions as follows: 0.5 mm bandwidth; standard sensitivity; auto PMT voltage; 2 s response; 50 nm*min^{-1} scanning speed for the full spectra with three replicates. The CD spectra of the appropriate blank solution and *aq. dest.* were recorded and subtracted from the protein spectra. The denaturation was induced by heating the sample at a rate of 0.5 °C*min^{-1} from 20 °C to 90 °C. The denaturation was monitored by the change in ellipticity at 200 nm, 205 nm, 210 nm, 220 nm and 280 nm. The resulting curve was analyzed using the "protein denaturation curve fit" of the JASCO Spectrum Analysis Program supplied with the instrument (JASCO Germany GmbH, Groß-Umstadt, Germany), based on a Boltzman fit as shown in Equation 1.

Sample dilution: 320 µl 10 mM Kpi pH 7, 0.12 mg protein in 10 mM glycine pH11, ad 400 µl 10 mM glycine pH11.

2.9.8 Differential scanning fluorimetry (DSF)

Thermal unfolding causes the exposure of usually buried regions of the protein with hydrophobic properties. DSF uses a hydrophobic surface binding, fluorescent dye that shows a shift in emission upon binding to monitor this process, also known as a thermal shift (Pantoliano *et al.*, 2001; Poklar *et al.*, 1997). This method can be performed with high throughput and only requires very small amounts of protein (~0.05 mg*ml^{-1}) in a sample size of a few microliters (Lo *et al.*, 2004). In this study, the samples were measured using a 7900HT real time PCR cycler (Applied Biosystems). Sypro orange® was purchased as a 5,000 x Stock in DMSO from Life technologies (Carlsbad, USA) and diluted to a 20 x dye solution in 50 mM Kp_i pH 7. For the measurement 10 µl of culture supernatant or purified enzyme and 10 µl of the 20 x dye was combined in the well of a 384-well PCR plate. The PCR-plate was sealed with a transparent film, briefly centrifuged (2 min, 1,000 *x*g) to remove air inclusions, and inserted into the real time PCR cycler with the following parameters:
10 min 20 °C equilibration, 2 min 20 °C to 15 s 95 °C with a heating ramp rate of 1 % (~1 °C * min^{-1}), ROX™ reporter dye (λ_{ex}= 480 nm, λ_{em} = 568 nm). The results were analyzed with GraphPad Prism v5.03 and fitted to a Boltzmann equation (Equation 1: Boltzmann equation).

Equation 1: Boltzmann equation

$$F(T) = F_0 + \frac{(F_{end}-F_0)}{1+e^{\frac{(T_m-T)}{C}}}$$

F(T): measured fluorescence at temperature T, F_0: fluorescence/ellipticity reading before the transition, F_{end}: fluorescence/ellipticity reading after the transition, T_m: melting temperature, C: enthalpy of the reaction; data was fitted to generate T_m.

2.9.9 BSLA activity measurement

For detection of lipase and esterase activity, different *para*-nitrophenyl-ester were used as substrate. The substrates were dissolved in acetonitrile, 2-propanol or 1,4-dioxane (see Table 2-4) as a 20 x stock solution (16 mM substrate).

Table 2-4 Overview of the *p*NP-esters used in this study

substrate	assay	buffer
***p*NP-butyrate (C4)**	detergent resistance[a]	50 mM TrisHCl pH8, 5 % acetonitrile
	esterase activity	50 mM Sørensen[c], 5 % acetonitrile
***p*NP-palmitate (C16)**	lipase activity and thermal resistance[b]	50 mM Sørensen[c], 5 % 2-propanol
***p*NP- stearate (C18)**	lipase activity	50 mM Sørensen[c], 5 % 1,4-dioxane

[a] as described in 2.9.10 , [b] as described in 2.9.11 , [c] supplemented with sodium deoxycholate and gum arabic as described below.

For the comparison of the activity of each variant all substrate stock solutions and the buffer were incubated at 37 °C before they were diluted to a 2 x working solution for the assay. 5 µl of the culture supernatant from a 1:2.5 dilution was applied to a well of a 384 well microplate, and diluted with 45 µl buffer.

The activity assay was started by addition of 50 µl of the 2 x working solution solution, mixed by shaking of the plate and recorded by monitoring the change in absorbance at 410 nm for 3 min in 20 s time intervals in a M1000pro microplate spectrophotometer from Tecan (Crailsheim, Germany). The lipolytic activity in U/ml is calculated as described below (Equation 2).

Samples were handled using the automatic 8-channel pipette “Xplorer” (Eppendorf, Hamburg, Germany) and the “freedom evo 200” liquid handling platform as shown in Figure 2-3 (Tecan, Crailsheim, Germany). All MTPs contained wild type control wells and

one well with the empty vector pET22b(+) as negative control, with no activity (see 2.8.4).

Equation 2: Volumetric activity

$$\frac{U}{ml} = \frac{\Delta O.D._{410nm} \times tV \times F}{d \times \varepsilon \times \text{assay time} \times sV}$$

tV: total volume	=	0.1	ml
F: dilution factor†	=	50	
d: optical path length	=	0.7	cm
ε: extinction coefficient (*p*NP)	=	15	µmol * ml^{-1} * cm^{-1} (Röllen, 2012)
sV: sample volume	=	0.005	ml

Sørensen buffer: 42.5 ml Na_2HPO_4 (8.9 g*l^{-1}), 2.5 ml KH_2PO_4 (6.8 g*l^{-1}).
*p*NPB solution: 17.2 µl *p*NP-butyrate, 5 ml acetonitrile, 45 ml Sørensen buffer.
*p*NPP solution: 30 mg *p*NP-palmitate or 32.5 mg *p*NP-stearate, 5 ml 2-propanol, 45 ml Sørensen buffer, 103.5 mg sodium deoxycholate and 50 mg gum arabic.
*p*NPS solution: 32.5 mg *p*NP-stearate, 5 ml 1,4-dioxane, 45 ml Sørensen buffer, 103.5 mg sodium deoxycholate and 50 mg gum arabic.

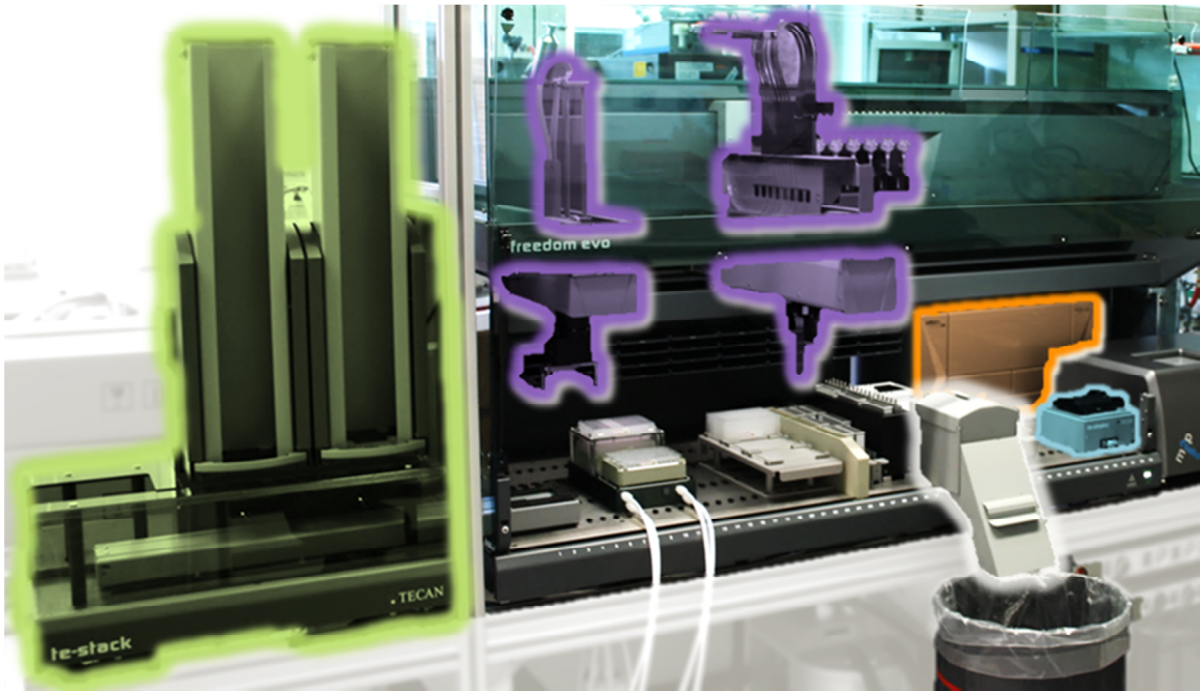


Figure 2-3 Automated liquid handling platform for screening of the BSLA library.

The deck of the platform was equipped with a MTP stacker used to store fresh plates and the diluted supernatant (highlighted green), two robotic arms for the transport of MTPs and for pipetting of substrate solution with eight pipetting channels (highlighted violet). The samples were mixed using a MTP shaker and incubator (turquoise highlight), and the hydrolysis of *p*NP-butyrate was monitored by the change in the absorption at 410nm in a MTP spectrophotometer M1000pro (orange highlight). Used tips were discarded using the waste disposal (white highlight), and used MTPs were stacked on the platform for later disposal. The overall system is a freedom evo 200 (Tecan, Crailsheim, Germany) with a built in sterile hood to avoid sample contamination.

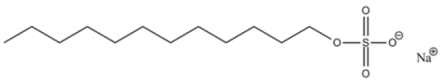
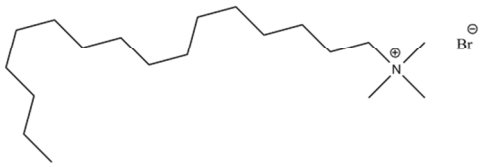
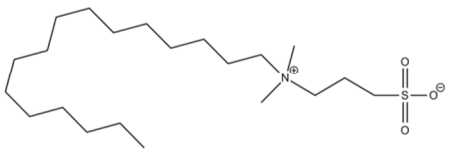
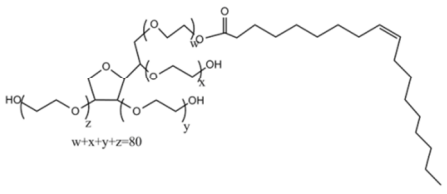
† 2.5 x prior to the assay, 10 x in the MTP, 2 x by addition of the substrate.

2.9.10 BSLA resistance screening

Screening cultures were incubated in MTPs (flat bottom 96 well) filled with 150 µl LB media for 16 hours at 37 °C, and 900 rpm with 3 mm shaking diameter. The precultures were then replicated with a 96-pin steel replicator into a v-shaped bottom 96 well MTP with 120 µl TB media containing glucose (0.5 g*l^{-1}) and lactose (2 g*l^{-1}), which was incubated for 16 hours at 30 °C and 900 rpm, 3 mm shaking diameter. Both overnight incubations were covered by microtiterplate lids with condensing rings, sealed with tape along the complete outside of the microtiterplate. The supernatant was collected by centrifugation (1500 *x*g, 40 min) and diluted 2.5 fold with Tris-HCl pH 8 (50 mM) for the use in the screening.

The detergent solutions were prepared fresh as a stock solution in 50 mM Tris-HCl pH 8 and periodically checked for a peroxide content lower than 1 µM (see methods. 2.5). The stock solution equals the concentration for the highest detergent concentration; each of the other two concentrations were obtained by 1:1 dilution steps (see Table 2-5).

Table 2-5 Overview of detergents used in this thesis

detergent	chemical structure	concentration[a]		
SDS, (Sodium dodecyl sulfate), anionic detergent		Stock :	0.78	mM
		1st dil.:	0.39	mM
		2nd dil.:	0.20	mM
CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide), cationic detergent		Stock :	0.60	mM
		1st dil.:	0.30	mM
		2nd dil.:	0.16	mM
SB3-16, (Palmityl sulfobetaine), zwitterionic detergent		Stock :	1.71	mM
		1st dil.:	0.86	mM
		2nd dil.:	0.43	mM
Tween 80, (Polyoxyethylene sorbitan monooleate), nonionic detergent		Stock :	0.18	mM
		1st dil.:	0.09	mM
		2nd dil.:	0.04	mM

[a] concentration of an 1.11 x Stock, and not the final concentration during incubation (dil. = dilution).

All MTPs contained wild type control wells and one well with the empty vector pET22b(+) as negative control, with no activity (see 2.8.4). For the screening assay 5 µl of the supernatant from each individual variant replicate was added to 45 µl of detergent solution (1.11 x Stock) containing Tris HCl pH 8 (50 mM) in 384 well flat bottom MTPs. For reference one microplate contained 4 replicates of each well from the 96 well microplate main culture only diluted with Tris HCl pH 8 (50 mM). The MTPs were incubated at 25 °C for 120 min. To avoid a possible influence of sodium deoxycholate and gum arabic on the detergents, the residual activity of BSLA in this screening was measured with *p*NP-butyrate (*p*NPB) which does not require emulsifiers. After the incubation 50 µl of Substrate solution (1.6 mM *p*NPB, 50 mM Tris HCl pH 8, 5 % (v/v) acetonitrile). Samples were applied using the automatic 8-channel pipette "Xplorer" (Eppendorf, Hamburg, Germany) or the "freedom evo 200" liquid handling platform (Tecan, Crailsheim, Germany).The hydrolysis of *p*NP-butyrate was measured as described in 2.9.9 . The residual activity of the variants and the wild type was calculated (Equation 3) and subtracted from another to express the resistance as change in comparison to the wild type (positive numbers = increased resistance, negative numbers = decreased resistance or rather increased sensitivity).

Equation 3: Calculation of the residual activity

$$\text{res. act. [\%]} = \frac{\text{act(detergent)}[\text{O.D.}_{410nm} * \text{min}^{-1}]}{\text{act(buffer)}[\text{O.D.}_{410nm} * \text{min}^{-1}]}$$

res.act.: the residual activity,
act(detergent): the slope of the sample (wild type or variant) incubated with detergent corrected for the autohydrolysis using the negative control,
act(buffer): the same supernatant sample but without detergent only in buffer, also corrected using the negative control.

2.9.11 Measurement of thermostability based on residual lypolytic activity

Screening cultures were incubated in MTPs as described in 2.9.10 . The culture supernatant was collected by centrifugation (1500 *x*g, 40 min) and diluted 2.5 fold with Sørensen buffer (see methods 2.9.9) for the use in the thermal screening. Two dry block incubators were set up with a microtiterplate adaptor that was covered by a lid (Thermomixer comfort, Eppendorf). Another dry block incubator (MKR 23 Cooling-

ThermoMixer, DITABIS) was equipped with a "15 ml and 50 ml falcon tube adaptor" (BT 03, DITABIS). Three falcon tubes with 19.8 ml of *p*NPP solution A were inserted into the falcon tube incubator. All of the dry block incubators were set to 50 °C, 30 min prior to the beginning of the experiment. 5 µl of the supernatant from 4 x 96 well plates was reformatted into one 384 well plate (A1 = A1 plate 1, A2 = A1 plate 2, B1 = A1 plate 3, B2 = A1 plate 4 and so forth) for the measurement of T_5^{50}, T_{15}^{50}, T_{30}^{50}‡. For this 45 µl of Sørensen buffer was added into each well of all three 384 well plates. All plates were covered by microtiterplate lids with condenser rings for the thermal incubation. The first plate was inserted into one of the MTP dry block incubator, and set to 30 min incubation at 300 rpm. During this incubation the second and third plate was used for the measurement of T_5^{50}, T_{15}^{50} in the other dry block incubator, also at 300 rpm.

20 s before the end of the incubation, 2.2 ml of *p*NPP solution B was added into the prewarmed *p*NPP solution A and briefly mixed. The substrate mixture was applied to the wells of the 384 well microtiterplate in 50 µl aliquots to start the measurement and measured in a microtiterplate reader M1000 pro (Tecan, Crailsheim, Germany). The residual activity in each sample was calculated from the slope of the change in absorption at $O.D._{410nm}$ relative to $T_{5\ min}^{50\ °C}$ during a measurement time of 3 min.

*p*NPP solution A: 19.8 ml Sørensen buffer, 45.54 mg sodium deoxycholate and 22 mg gum arabic.
*p*NPP solution B: 48 mg *p*NP-palmitate in 8 ml 2-propanol.

2.10 Computational methods

Data analysis:

DNA and amino acid sequences were analyzed using Clone Manager 9 and SerialCloner 2.1. Chemical structures in this thesis were created with ChemBioDraw Ultra 13. Office 2010 was used for text editing and spreadsheet analysis. Microtiterplate sequencing results were aligned with clustalW v.2.1 (www.clustal.org), and reformatted into an Excel spreadsheet with the Fasta2excel converter from FaBox (http://users-birc.au.dk/biopv/php/fabox/index.php). The AIDA Image Analyzer v4.18 (Raytest Isotopenmessgeräte GmbH, Straubenhardt, Germany) was used for the densitrometic analysis of SDS-PAGE using the molecular weight standard as a reference.

‡ T: the residual activity, the superscript denotes the incubation temperature, the subscript denotes the incubation time.

Databases:

The protparam tool from EXPASY was used to calculate the molar extinction coefficient of BSLA (http://www.expasy.org/). The codon usage to design the oligonucleotides for site directed mutagenesis was obtained from the Codon Usage Database (http://www.kazusa.or.jp/codon/), and the primer sequences were then generated using a Perl v5 (Moorhouse and Barry, 2004) script.

Conservation within bacterial lipases:

The conservation within the bacterial lipases was calculated using the available sequences from Pfam database (Punta *et al*., 2012) for the family "Lipase_2 (PF01674)", but limited to the bacterial sources, which contains 326 sequences from 227 bacterial species. All sequences were aligned using ClustalW. Conservation was then calculated for each position using the number of sequences with the same amino acid as wild type BSLA / total number of sequences (=325) x 100.

Surface accessibility:

The surface accessibility of BSLA was calculated as described by (Lee and Richards, 1971) using Discovery Studio Modeling Environment, Release 4.0 (Accelrys Software Inc., 2013) with a 1.5 Å water probe radius and 5 % cutoff. The residues Ala1 and Asn181 are not in the crystal structure and were manually defined as being solvent accessible.

BSLA Resistance Database:

The main script which uses CGI to generate the output was written in Perl v5 (Moorhouse and Barry, 2004). The full source code of the script is available in the Appendix (see 6.3). The other content of the webpage is generated using the content management system WordPress v4.0 (Wordpress Foundation, Texas, United States). The data was stored in MySQL v5.0.77 (Oracle Corporation, Redwood City, California, United States) tables and JSMol and JMol (Jmol development team, open source) are used for visualization of a structural representation, which is controlled using JavaScript (Mozilla Foundation, Mountain View, California, United States) commands. All of these resources are available under the GNU General Public License (Free Software Foundation, Boston, Massachusetts, United States).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Complete site saturation mutagenesis

3.1.1 BSLA is released into the culture supernatant of *Escherichia coli* strain BL21(DE3)

Due to the number of variants, the experiments were performed in a 96-well microtiterplate (MTP) format. The created libraries required good storage properties to enable future use in other projects and good reproducibility. Initial experiments were conducted to identify the most suitable heterologous or homologous expression system alongside with tagged and untagged constructs. The homologous expression in *B.subtilis* TEB1030 was under the control of a constitutive *Hpa*II promoter of the pBSMul1LipA shuttle vector (Brockmeier *et al*., 2006). The construct was modified to remove a short linking sequence between the signal sequence and the mature BSLA using a site directed PCR reaction (primer: LipAΔ*Eco*RI_fw and LipAΔ*Eco*RI_rv) to eliminate possible effects of linker peptide (Glu-Phe) onto the properties of BSLA (methods 2.8.4). The heterologous expression in *E. coli* BL21(DE3) was under the control of the lactose and IPTG inducible lac UV5 promoter (Miroux and Walker, 1996; Studier *et al*., 1986). This produces the T7 RNA polymerase from the λ-lysogen in *E. coli* BL21(DE3) which then transcribes the target gene inside of the MCS of plasmids based on pET22b(+) from Novagen (Merck Millipore, Darmstadt). In pET22lipAPelB *lipA* from *B. subtilis* 168 is fused to the secretion signal of the pectate lyase B from *Erwinia carotovora* (*pelB*) which leads to a secretion of BSLA into the periplasm of *E. coli* BL21(DE3) (Eggert, 2001). Another very common expression strategy was explored with pET22lipAΔSS in which the secretion signal is exchanged with an N-terminal histidine tag that allows purification of the enzyme and derived variants using an immobilized metal affinity chromatography (IMAC).

The three described expression strategies were tested in a 96-well MTP format under the same conditions used during screening (Figure 3-1A+B). The homologous expression and extracellular secretion with *B. subtilis* TEB1030 (Figure 3-1B, lipAssLipA) resulted in an extracellular activity of 150 U*ml^{-1}. An associated master thesis (Skoczinski, 2012) studied possibilities for the homologous expression of BSLA libraries. This project confirmed the high yield of secreted protein but identified a key problem of *B. subtilis*

libraries. Unlike fresh transformed *B. subtilis* clones the cryo cultures showed high growth differences (35 %) and in some cases had very long lag phases of varying length, most likely due to sporulation in between freezing and thawing cycles (Skoczinski, 2012). A preceding study also showed a potential loss of the plasmid during long cultivations (Brockmeier, 2006). These results show the requirement of fresh transformations instead of cryo cultures that need long precultivation times before starting a main culture. Screening and exchanging of the libraries between the collaboration partners would have required the purification of the plasmids from each clone and fresh transformations before each screening, which was not feasible for this project.

Interestingly the heterologous system with secretion of BSLA in pET22lipAPelB into the periplasm of *E. coli* BL21(DE3) promoted the release of BSLA into the culture supernatant with an activity of 169 $U*ml^{-1}$ (Figure 3-1A). Both the empty vector, which was used as a negative control, and the inactive BSLA in pET22lipA(S77A)PelB, in which the Ser77 of the catalytic triad was exchange by alanine, show no activity. Another associated master thesis (Röllen, 2012) has examined the release of BSLA. The phenomenon was successfully scaled up to a lab scale 700 ml fermentation to allow for more elaborate analytics. The results indicated that cell lysis is unlikely as a reason for the release of BSLA based on cell numbers, fluorescence microscopy and detection of cytoplasmic proteins. The release was shown to be independent of the lipolytic activity but promoted by the use of ampicillin as selection marker in pET22(b)+ based plasmids (Röllen, 2012). Accordingly, expression with the plasmid pET28b(+), which harbors a kanamycin resistance marker instead of ampicillin, and the identical insert resulted in a considerable reduction of the amount of released BSLA (Figure 3-1A).

Due to the higher expression level in comparison to the *B. subtilis* TEB1030 expression system, *E. coli* BL21(DE3) produces far more intracellular accumulating BSLA as seen by SDS-PAGE (Figure 3-1C, methods 2.9.2). Both *E. coli* BL21(DE3) expression setups showed a good reproducibility of enzyme activity as seen by the standard deviation of the 95 clones in each MTP (Figure 3-1A+B).

Since the periplasmatic secreted BSLA was efficiently released into the supernatant of the *E. coli* BL21(DE3) cultures with pET22lipAPelB, this system was chosen as the template for the saturation mutagenesis library, described below. The chosen system meets all requirements of good reproducibility, storage as cryo culture and ease of use for screening purposes.

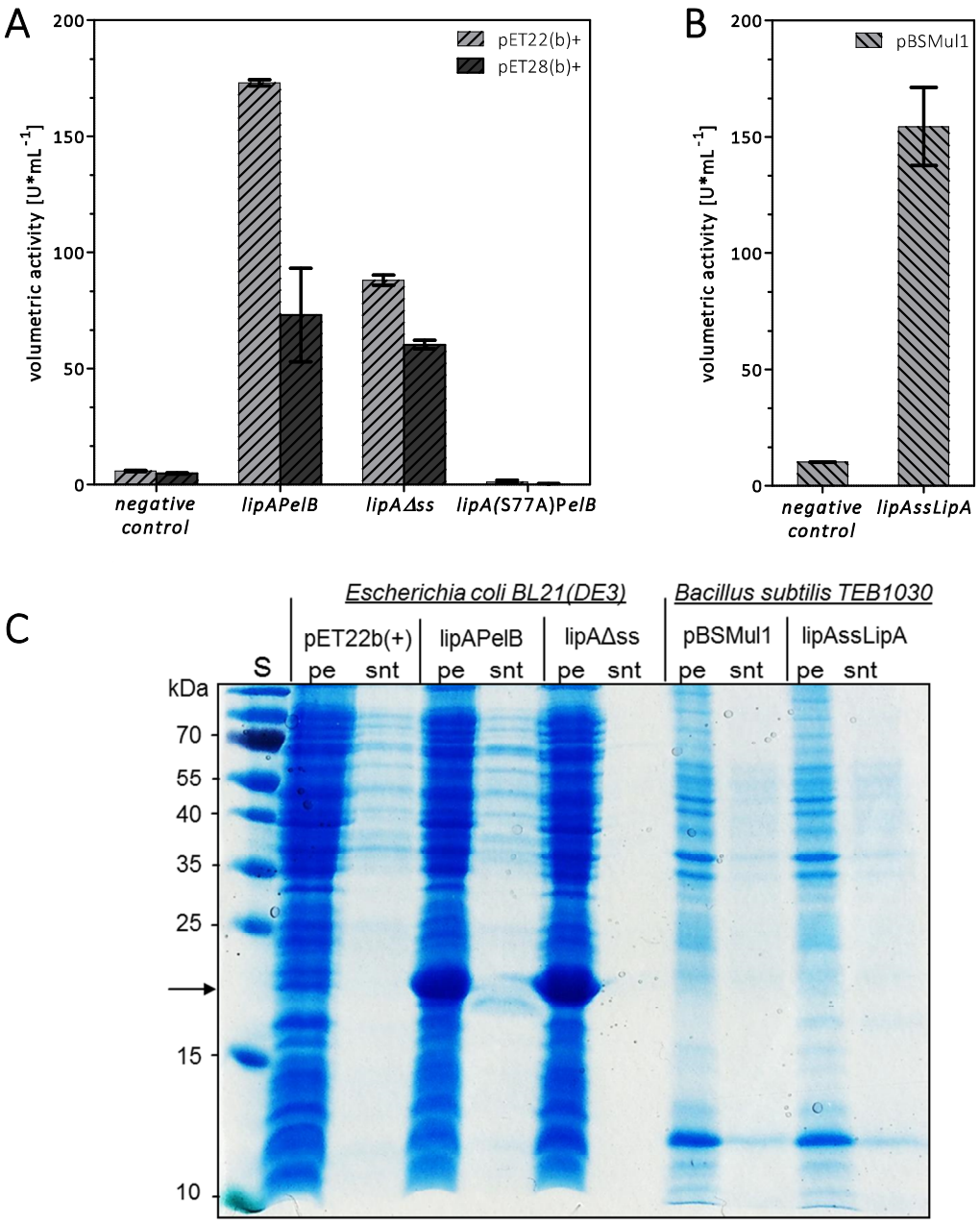


Figure 3-1 Comparison of the lipolytic activity and protein content in heterologous and homologous BSLA producing clones of *E. coli* BL21(DE3) and *B. subtilis* TEB1030 respectively.

Lipolytic activities were determined for (A) *E. coli* BL21(DE3) and (B) *B. subtilis* TEB1030 with different plasmids (described below). The image in (C) displays the protein amount in the whole cells (="pe") and supernatant (="snt") as determined by an SDS-PAGE (only pET22b(+) based plasmids of *E. coli* are shown). All cultures were grown to stationary phase in 120 µl TB auto inducing media in a 96 well microtiterplate, each value represents the average of 95 individual clones, pooled for the SDS-PAGE. (pET22b(+) is the negative control for *E. coli* BL21(DE3), pBSMul1 is the negative control for *B. subtilis*, S = molecular weight standard. The expected molecular weight of BSLA (19 kDa) is indicated by an arrow.
The samples are labeled with the respective insert in the MCS of the empty vector pET22(b)+/pET28(b)+/pBSMul1 (lipAPelB = fusion with PelB secretion signal, lipAΔss = his_6-tag instead of a secretion signal, lipA(S77A)PelB = inactive variant of BSLA with secretion signal, lipAssLipA = the homologous secretion signal fused to BSLA).

3.1.2 Optimization of current mutagenesis methods for the efficient full site saturation mutagenesis of BSLA

Previous published examples of a full site saturation mutagenesis used the megaprimer method on BSLA (Funke *et al.*, 2003) and gene site saturation mutagenesis (GSSM) on a metagenome xylanase (Palackal *et al.*, 2004). In consideration of sequencing costs, the previous studies practiced a 'cherry-picking' setup in which only beneficial substitutions were actually identified by sequencing. In addition, the true sequence coverage was not estimated, for example by sequencing a representative number of random picked clones.

In preparation of the complete saturation mutagenesis presented in this study an iterative two-stage procedure was devised in cooperation with Dr. Yuval Nov (Department of Statistics, University of Haifa, Israel). This procedure was used to estimate the most suitable sample and library size during the saturation mutagenesis step (Nov *et al.*, 2013). The mutagenesis of every position was carried out as an individual site saturation PCR (example in Figure 3-2) as described in methods 2.8.4 . The work load was shared with the working group of Prof. Schwaneberg (Institute for Biotechnology, RWTH Aachen, Germany) who mutated the first half of the *lipA* gene (AA positions 1-91). In the end both libraries (1-91 and 92-181) were exchanged between the two working groups.

In the first step, each codon of the mature BSLA was subjected to a site saturation

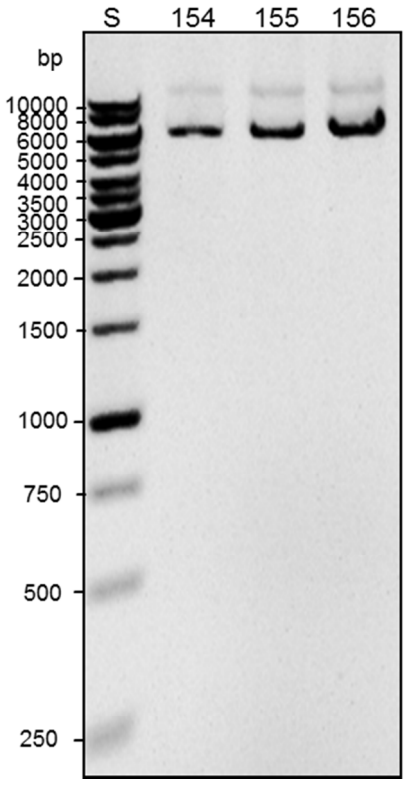


Figure 3-2 Exemplary agarose gel of a site saturation PCR product.

Exemplary picture from three of the 90 sites that were mutagenized in this study. All constructs are based on pET22lipAPelB (6 kb), numbers indicate the codon position from the mature BSLA which was site saturated.1,5% agarose gel, 25min 200V, stained with ethidium bromide. S = DNA standard.

mutagenesis and 92 clones were randomly picked. Ten additional clones from each position were sequenced as a control sample to estimate the wild type content and success of the saturation mutagenesis. If the wild type content of the control sample was below 20 %, the other 92 clones of the MTP were sequenced, too. A second round with a site directed mutagenesis (SDM) should then generate all missing single amino acid substitutions.

In a first attempt to create the library the wild type content was 56 % (table 3-1). Optimization of the site saturation mutagenesis protocol by reducing the amount of template for the PCR (40 pg*µl^{-1}) and increasing the amount and incubation time of *Dpn*I endonuclease (24 h, 37 °C, 1.5 U*µl^{-1}) resulted in the reduction of the wild type content to a satisfactory level of 19 %.

Table 3-1 Overview of protocol modifications to optimize library generation

mutagenesis attempt	experimental set up	random sample wild type content	comment
1	two stage protocol (Edelheit *et al.*, 2009)	56 ± 18 %	mean value of 19 library positions, final PCR product contained too much template DNA.
2	• amount of template lowered to 0.04 ng*µl^{-1}, • restriction with *Dpn*I (24 h, 37 °C, 1.5 U*µl^{-1})	19 ± 13 %	mean value of 14 library positions, actual yield was reduced due to primer insertions.
3	• *Dpn*I heat inactivation (70 °C, 15 min) • immediate purification using silica coated membrane	18 ± 8 %	mean value of 90 library positions, final protocol for the full library.

However, it was observed that this method also resulted in a large number of unusable clones with multiple primer insertions and therefore could not be used for generating the full library. There were indications that multiple primer sequences were inserted after transformation of the PCR product into the cell. As a hypothesis, the primer oligonucleotides are transformed alongside the actual product into the cell and attached to the ends of the newly synthetized doubly nicked plasmid. This was supported by the observation that heat inactivation and removal of the primer, dNTPs and polymerase using spin columns with silica-membrane which only binds 100 bp to 10 kb DNA fragments (see methods 2.5) was able to reduce the number of Insertions and resulted in

a wild type content of 18 % in the control samples. The protocol was changed accordingly but the phenomenon was not investigated further at this point.

In total 341 variants were missing after sequencing of all 181 site saturation libraries (102 sequenced clones per position). All of the missing variants (Figure 3-3) were created by a site directed mutagenesis, which was again shared between the two working groups. This method was successful in constructing a library with all 3,439 possible variants (181 AA of BSLA * 19 naturally occurring AA). The true wild type content of the whole library was later determined to be 17.2 %.

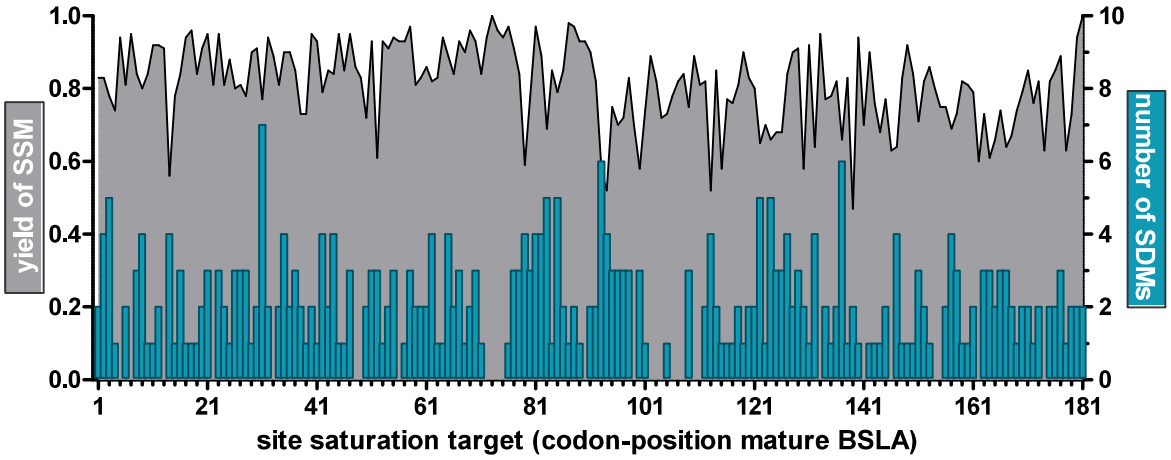


Figure 3-3 Yield and number of site directed mutations per position.

The yield of the site saturation mutagenesis (SSM) is represented as the proportion of clones that was successfully mutated; accordingly, a low yield indicates a high number of wild type clones within the 92 sequenced clones (excluding the 10 additional clones). The turquoise bars also indicate the number of missing variants created by site directed mutagenesis (SDM). Sequencing results for the positions 1-91 were provided by Josiane Frauenkron-Machedjou (Frauenkron-Machedjou, 2014).

The full site saturation of BSLA was based on a pET22b(+) vector with the T7 expression system which results in large amounts of released BSLA in the culture supernatant with no need of a cell lysis step.

BSLA was successfully site saturated in a systematical manner, resulting in the thus far most consistent library of an α-/β-hydrolase with every theoretically possible single amino acid substitution.

3.1.3 Next generation sequencing methods hold great potential for the sequencing of site saturation libraries

With dropping cost for the synthesis of oligonucleotides or whole genes (Kosuri and Church, 2014), projects with a similar scope as presented in this thesis could become very common. One major cost factor in this project was the cost of sequencing. With the emerging possibilities of high throughput sequencing technologies (such as pyrosequencing (Ronaghi, 1998), Illumina (Bentley *et al.*, 2008), IonTorrent (Rank *et al.*, 2009), SOLiD (Shendure *et al.*, 2005)) the possibility of using such a setup to sequence a whole enzyme library was evaluated. With current sequencing methods the cost for sequencing of each clone are about 2.80 €, while high throughput sequencing would only cost an estimated 0.08 € per sample. Nevertheless, all of these methods can only handle small read lengths of 200–400 bp. A common approach for genome sequencing is a shotgun method in which small fragments of the genome are sequenced and later reassembled based on the overlapping regions. Another application is the sequencing of metagenome libraries from varying locations. Since some of the above mentioned methods result in reads of many terabases common practice allows mixing of more than one sample (Shokralla *et al.*, 2014). For this, prior to the sequencing run the samples are amplified with a combination of oligonucleotides by attaching a small nucleotide sequence - a barcode - that will later allow to distinguish the sequence origin (Shokralla *et al.*, 2014).

This principle was used to attach a combination of four out of 49 different barcode sequences, unique for each clone, to the flanking ends of the amplified sequence of each clone. This unique combination of barcode sequences allowed an assignment of the sequencing results to one of the 17,280 clones (181 AA positions x 96 wells per MTP library). The final DNA - pool was sequenced using an IonTorrent® system applied to a quarter of an 314 chip by the genomics & transcriptomics facility (BMFZ, Heinrich Heine University Duesseldorf), the data was refined by the core facility for bioinformatics and biostatistics (Institute for applied statistics, Heinrich Heine University Duesseldorf). The quarter sequencing run was completed with 191,825 reads, the majority of sequences (80 %) contained four barcodes and was successfully assigned to 70 % of the 17,280 samples. The number of reads per plate (Figure 3-4A) varied between 20 and 4,000 reads, especially the mid-range (codon positions 88 - 95) show a low coverage. On the other hand, the second PCR shows more uniform results between 500-1,200 reads per well position across all plates. No reads were recorded for the entire row A, and column

12 was generally recovered in lower frequencies than the other columns (Figure 3-4B), which was most likely the result of pipetting errors.

As a first trial for such a task, this experiment was successful in demonstrating that it is possible to recover most of the sequences and assign them to their origin. However, the majority of sequences (65 %) was not sequenced often enough with only four or less reads to allow a reliable assignment of the sequence identity with this first attempt.

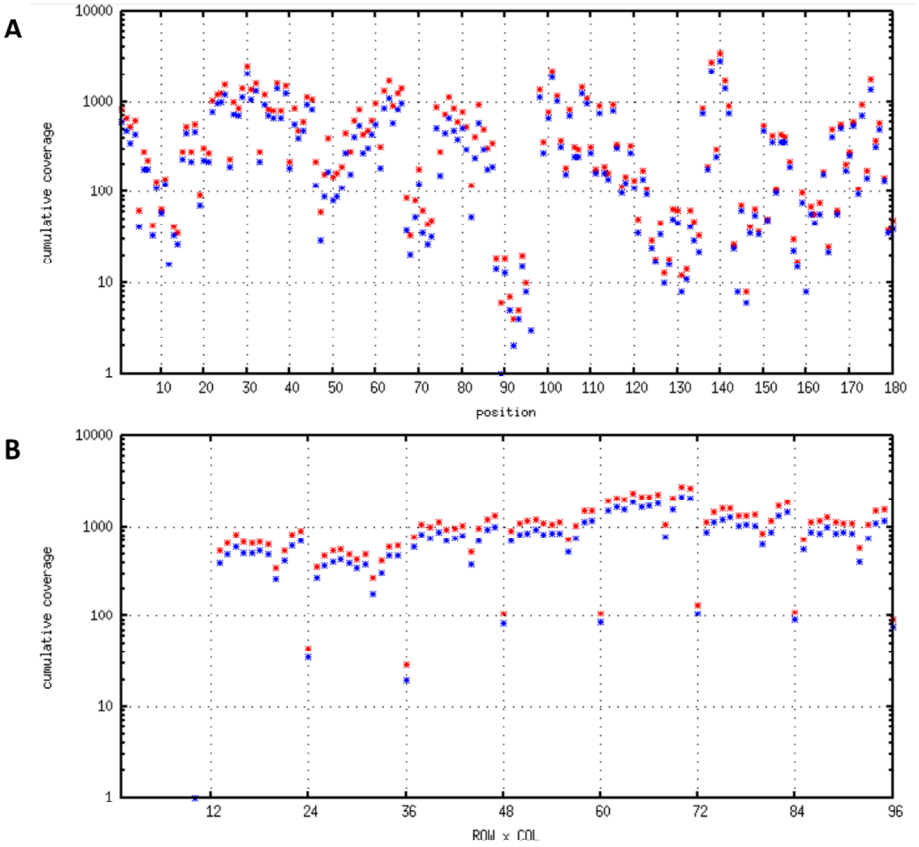


Figure 3-4 Summary of IonTorent® sequencing results.

(A) the cumulative number of reads found for each of the microtiterplate libraries. (B) the number of reads found for each well number (row A1-A12 corresponds to number 1-12, C1-C12 numbers 13-25 and so forth), red dots are based on results of alignment parameters allowing mismatches, blue dots are the result of an alignment without mismatches in the barcode DNA sequences.

Next generation sequencing technologies are a promising tool to enable future projects with a similar scope as presented in this thesis. The results have shown that it is possible to combine a large amount of barcode sequences to label each sample of the saturation mutagenesis. A large number (70%) of these barcode combinations was successfully retrieved from the sequencing results with only 3% of the costs of traditional sequencing. However, the number of reads generated in a quarter of the smallest IonTorrent chip (314) was insufficient to reliably identify the mutations of each clone. The coverage of each position and well indicated that pooling of the samples in equal parts is crucial and even small pipetting errors can result in large variations of coverage.

3.2 Full sequence analysis of BSLA activity

3.2.1 Adjustment of biomass production in a MTP format expression system

As described in 3.1 BSLA is secreted into the periplasm of *E. coli* BL21(DE3) using a PelB secretion signal and released into the supernatant (Figure 3-1). In order to optimize screening efficiency the expression conditions were needed to be adjusted so that the overnight expression resulted in an activity suitable for direct use. A very high activity in the supernatant would require high dilutions, which would require additional pipetting steps that potentially increase the standard deviation of the assay. Thus, the goal was to obtain roughly 200 µl of supernatant sample with an approximate activity of BSLA of 0.2 $\Delta O.D._{410nm}*min^{-1}$ with *p*NPB as substrate (methods 2.9.9). Cultivation temperatures of 25 °C, 30 °C and 37 °C were compared to optimize the rate of biomass production. Incubation of 150 µl of expression culture in autoinducing TB_{Amp} media at 25 °C (20 h), 30 °C (16 h) and 37 °C (16 h) resulted in wild type reaction rates of 0.10 (± 12 %), 0.43 (± 9 %) and 2.65 (± 26 %) $\Delta O.D._{410nm}*min^{-1}$ respectively (methods 2.7.1). The cultures were inoculated from an overnight culture (LB_{Amp}-media, 37 °C, 16 h) with a steel pin replicator from the -80 °C cryo culture. In consideration of these results, an expression at 30°C for 16 h in 120 µl of cultures which were diluted 1:2.5 fold with 50 mM Tris-HCL buffer pH 8 were defined for the preparation of the supernatant for the following screening experiments (further described in methods 2.9.9).

3.2.2 The central β-sheets are least tolerant towards substitutions

While there are already studies showing small libraries of saturation mutagenesis of for example active site residues of the *Pseudomonas aeruginosa* lipase A (Reetz *et al.*, 2005) or active site cleft regions of BSLA (see Table 1-1) this is the first approach able to fully elucidate the contribution of every residue position as well as probing towards every possible substitution.

A *p*NPB activity assay with the full library showed that 610 (or 17 %) out of 3,439 BSLA variants showed an enzymatic activity in the culture supernatant lower than 10 % compared to the wild type activity. These variants were defined in the following chapters

as being inactive. However, it should be mentioned that the methodology of the screening assay is not able to distinguish a dramatic reduction in the amount of synthesized or released enzyme from a loss of activity in the supernatant.

Nonetheless, inactivating substitutions were mostly found in positions strongly conserved among the bacterial lipases (see Figure 3-5). In particular, every substitution of the active site residues Ser77 and His156 as well as Gly11 led to inactive variants. The function of Gly11 located at a loop between β3 and αA will be discussed in more detail in chapter 3.2.4 . The third active site residue Asp133 can be substituted to Glu, as seen in other related enzymes (Arpigny and Jaeger, 1999; Bornscheuer, 2002). These results suggests an enzyme inactivation effect rather than changes in transcription or translation efficacy.

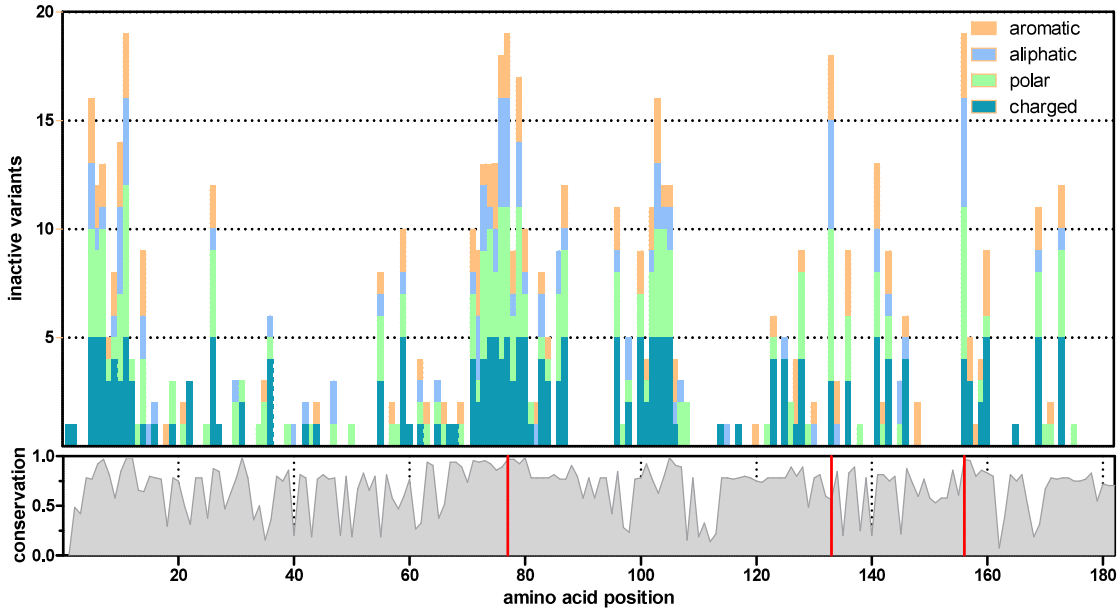


Figure 3-5 Location and chemical properties of inactivating substitutions in BSLA.

Each site was substituted against all other 19 possible amino acids. Variants with an activity lower than 10% of the wild type (~0.1 $\Delta O.D._{410nm} * min^{-1}$) were defined as inactive. The bars, colored by the chemical properties of the residue, represent the number of inactive substitutions for each amino acid position in BSLA. The conservation plot (1.0 means 100 % conservation) among 326 sequence homologues to BSLA (see methods 2.10) is shown underneath. The red lines indicate active site residues Ser77, Asp133 and His156.

There were also certain regions with many consecutive positions which show a very low tolerance towards substitutions. Most of these regions are β-sheets that make up the hydrophobic core of BSLA. The first of these regions is the highly conserved β3 (AA 6-

12) and one of the major sheets in the hydrophobic core of the protein (Figure 3-6).

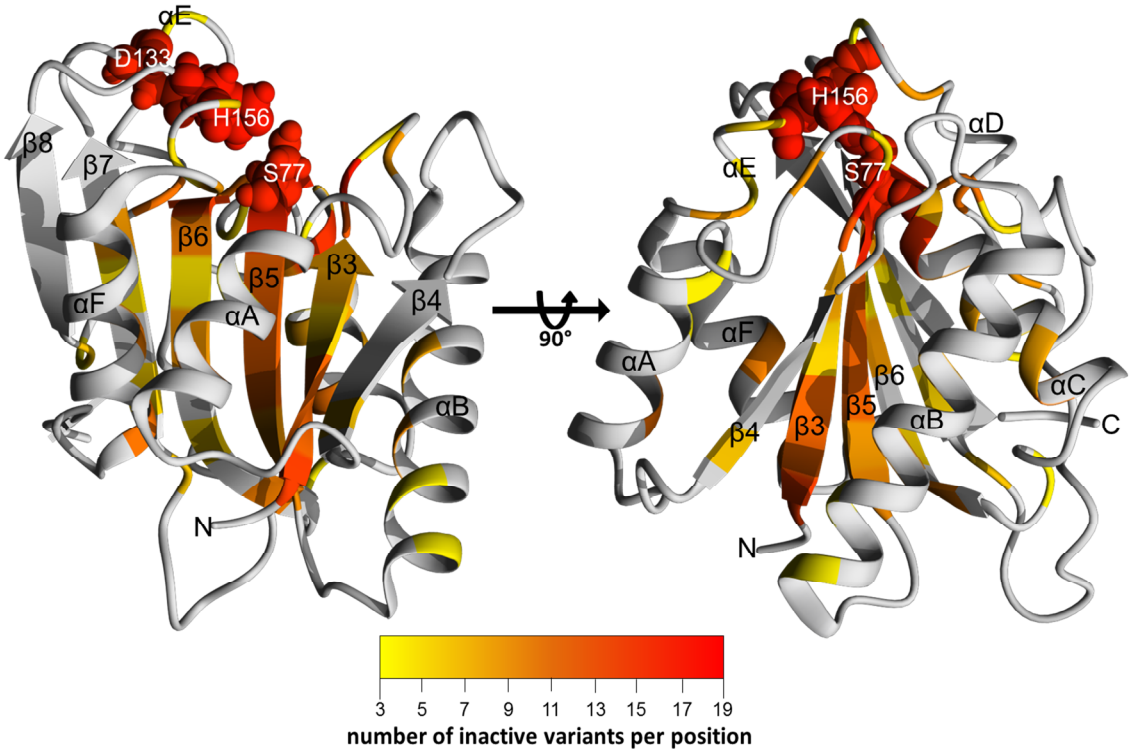


Figure 3-6 Tertiary structure representation colored by the number of inactive clones in the full library

Ribbon representation of BSLA (PDB:1I6W) was colored based on the number of inactive variants (activity lower than 10% of the wild type) of each position after generating all 19 possible amino acid substitutions. The representation on the right side is turned by 90° to allow visibility of αC and αD. All positions with up to two inactive variants are colored grey, three colored yellow gradually increasing in red color until all 19 substitution were found to be inactive. S77, D133 and H156 highlighted in red with side chain atoms. YASARA was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004).

The following β4 (AA 36-39), which is also in part solvent accessible, seems to be more robust since only a few substitutions led to inactive variants. The following β5 (AA 72-78) and β6 (AA 96-103) showed the highest number of inactivating substitutions. Substitutions at one of these two regions inside of the protein most likely have a direct impact on the conformation of the nearby active site residues (see Figure 3-6). In particular, substitutions within the sequence of β5 led to many variants with very low or complete loss of activity. This suggests that this sheet is of high importance to ensure the correct conformation and unusual torsion angles of the active site Ser77 (van Pouderoyen *et al.*, 2001). This would also be an explanation for the high impact of the two neighboring strands (β3 and β6), since they are also able to influence the orientation of β5. The β7 (AA 124-129) still shows a slightly increased number of substitutions leading to inactivation although considerably less prominent than the central three β-

sheets. The very last solvent accessible β8 (AA 147-151), similar to β4, is again very tolerant towards substitutions. Additionally, the results emphasize the importance of the loop region between β3 and αA located in close proximity to the catalytic S77 (see Figure 3-6). Substitutions of amino acids in this loop showed a high frequency to cause a conformation change with loss of activity.

3.2.3 Proline substitutions are the most frequent cause for inactive variants, followed by aromatic or charged amino acids

On the other end, 70 (38 % of 181 AA) positions did not inactivate the enzyme regardless of the introduced amino acid. These very tolerant positions are mostly located in solvent accessible loops or helices of BSLA. A closer look at the kind of substitutions based on the chemical properties of the amino acids that were introduced revealed a few patterns; The previously discussed β-sheet regions in some cases allow substitutions with aromatic or aliphatic residues, while polar or charged residue side chains are very likely to cause structure disrupting conformational changes. The overall number of inactive variants caused by substitution with each amino acid is shown in Figure 3-7. Pro substitution found in 50 inactive variants had the highest inactivating effect, which is not surprising since Pro is a rigid secondary α-amino acid known to disrupt secondary structures (O'Neil and DeGrado, 1990). Also the substitutions with charged residues have frequently resulted in inactivation, possibly introducing new ionic interactions or leading to protein misfolding by disrupting the protein hydrophobic core. The second most inactivating group were aromatic substitutions, in particular Trp. The large aromatic side chains probably influenced the packing of the BSLA and thus resulted in structural changes that led to inactive variants. The results show that Ala, which is commonly used for Ala-scanning experiments (Cunningham and Wells, 1989; Fellinger *et al.*, 2008), has indeed the lowest propensity towards inactivation (see Figure 3-7). This is the first study of this kind that is able to confirm this expectation.

This basic information of distribution of active and inactive variants is already of great significance if a reduction of the screening effort is desired. The provided data can be used for the creation of a focused library of a given small globular protein with a hydrophobic core which will avoid generating and assaying a lot of inactive variants. In addition, it would be advised to change the mutagenesis codon from the NNS or NNK to

a degenerated codon mixture that would avoid substitutions with Pro and eventually other potent inactivating substituents.

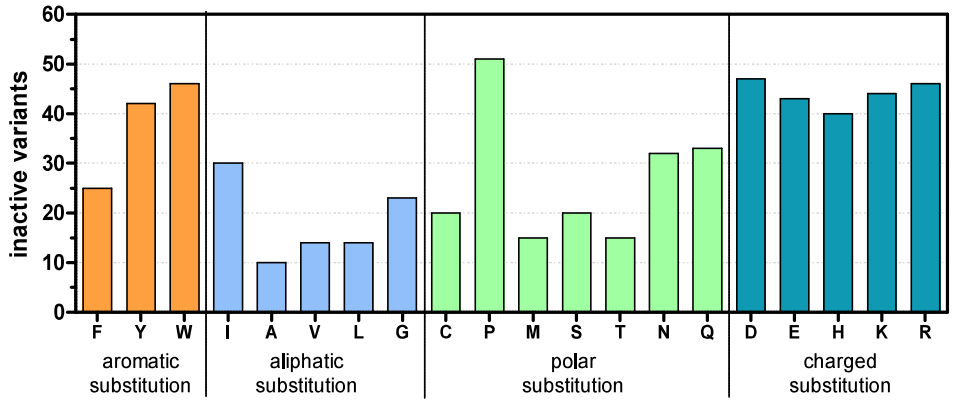


Figure 3-7 Frequency of each amino acid among the inactivating substitutions.

The figure provides the absolute number of variants with the amino acid substitutions, which has led to an inactivation. Amino acids are grouped and colored by their chemical properties. Coloration of bars is comparable to coloration in Figure 3-5.

Determination of the activity of each variant identified the location of hot spots for inactivation of BSLA predominantly in buried β-sheets of the central hydrophobic core what could be applied for generation of more focused libraries of similar enzymes.

In addition, these results confer with the practice of alanine scanning mutagenesis but also provide information on the detrimental effect of all other residues. This is very useful to find alternatives for other scanning experiments in case alanine substitutions are undesired or in case a certain amino acid has to be replaced, e.g. in functional studies.

3.2.4 The GXSXG pentapeptide and active site residues show more tolerance towards substitutions than expected according to sequence conservation

A very defining feature of lipases is a sequence referred to as the pentapeptide GXSXG (X = any amino acid) which is highly conserved among most α-/β-hydrolases (Heinzman *et al.*, 1987; Kourist *et al.*, 2010). However, BSLA already indicates that some exceptions are possible since the motif generally begins with an Ala instead of Gly in the first position among sequences of the *Bacillus sp.* (Arpigny and Jaeger, 1999). The activity in this screening is based on the *p*NPB hydrolysis rate of the culture supernatant (see methods 2.9.9). Permitted substitutions in the GXSXG-pentapeptide were identified with a high confidence (Figure 3-8A) while ignoring cell growth and changes in the amount of released BSLA. Apart from the conserved pentapeptide, the sequence of β5 (AA 72-75)

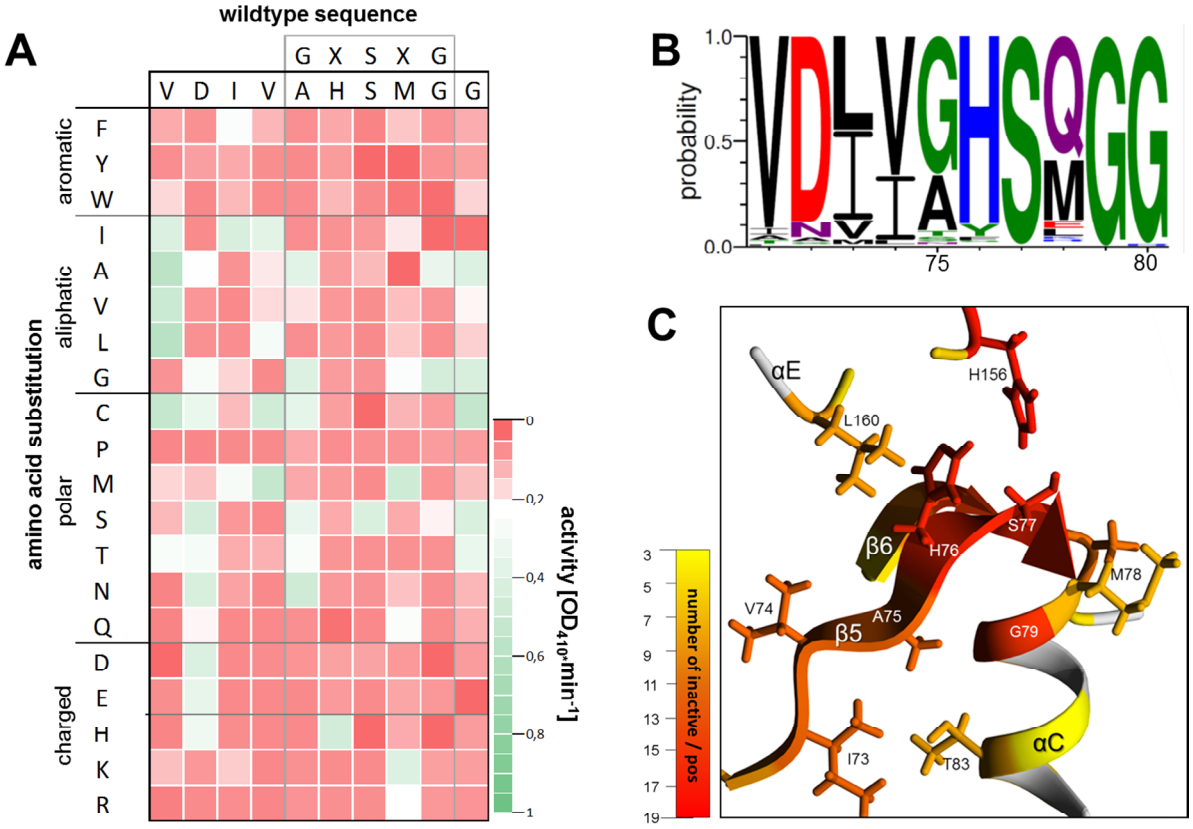


Figure 3-8 Variability of the conserved GXSXG motif.

(A) The measured *p*NPB activity of each variant is shown as a heat map, along with five additional residues in vicinity of the pentapeptide. (B) The same region is shown based on an alignment within the family of lipases (see methods 2.10) colored according to their property, created with WebLogo 3 [black = hydrophobic, red = neg. charged, green = small, blue = pos. charged, purple = polar]] (C) The same region along with neighboring residues as a 3D representation generated with YASARA (Krieger *et al.*, 2004).

which leads to this motif is also highly conserved along with a following Gly behind the pentapeptide. The prosite entry PS00120:LIPASE_SER[4] contains a more specific motif for this region especially for lipases according to [LIV]-{KG}-[LIVFY]-[LIVMST]-G-[HYWV]-S-{YAG}-G-[GSTAC][5]. An alignment of the same region only for bacterial lipases contained in the Pfam PF01674:Lipase_2[6] is shown as a sequence logo in Figure 3-8B. This alignment indicates that some of the variable positions from the motif are conserved among bacterial lipases, e.g. the residue {KG} (Asp72 in BSLA) which excludes Lys and Gly contains in 90 % of cases Asp, the amino acid preceding the catalytically active S77 is usually His. As already demonstrated in chapter 3.2.1 this region has shown the highest conservation and most consecutive inactive variants in the BSLA sequence (Figure 3-5).

The first residue of the β5, V71 is found in >95 % of bacterial lipases with a hydrophobic contact to αB, which according to the screening results can be substituted by other small hydrophobic residues that maintain this interaction (Figure 3-8A). Substitutions with larger aromatic amino acids, like Phe, Trp or Tyr lead to inactivation of the enzyme (Figure 3-8A). Next is the surface accessible D72 which in some lipases is found to be replaced by its derivate Asn as seen in the sequence logo (Figure 3-8B). The saturation mutagenesis shows that also chemically similar Glu and Gln are able to maintain activity, as well as some polar residues. According to the sequence logo the following three amino acid positions 73-75 are more variable than others in this region and should remain active with the substitutions I73[LVM], V74I and A75G. In position 73 only I73M maintains some residual activity, all other substitutions cause loss of activity. V74 can be substituted not only against Ile but also with Cys and Met that are surprisingly different and uncommon among the bacterial lipases in this position. A75, the first residue of the pentapeptide and part of β5 can be substituted by Gly in accordance to the consensus motif without loss of activity (Figure 3-8A). Interestingly Ser, Asn or Cys can also replace it, from which the latter is not found in any of the naturally occurring sequences. The second residue of the pentapeptide, H76, is defined in the GXSXG as a replaceable amino acid position. However, in BSLA this residue cannot be substituted without losing activity, in addition there is also a very low variability among bacterial lipases. As expected this is also true for the catalytic S77 required for the nucleophilic attack of the ester bond. Next follows M78 which is the second ‘X’ in the motif showing the highest

[4] http://prosite.expasy.org/PS00120, accessed 29.07.2014
[5] ambiguities of accepted amino acids are listed in between square parentheses '[ ]' not accepted amino acids are provided between a pair of curly brackets '{ }'
[6] http://pfam.xfam.org/family/PF01674, accessed 10.02.2014

residual activity with a very uncommon substitution of M78K, according to related sequences. M78 is at the beginning of the αC in an orientation towards the surface of the protein, while the backbone amide group is orientated towards the active site to form the oxyanion hole (Figure 3-9). Two main chain amide groups from M78 and I12 form the oxyanion hole that stabilizes the reaction transition state (see also Figure 1-2 for reaction mechanism). The substitution M78Q is found most commonly in other lipases but only retains a very low activity in BSLA that was also achieved by substitutions with Gly or Arg (Figure 3-8). The results suggest that only Met and Lys lead to the correct orientation that allows the interaction of the backbone in the reaction to stabilize the oxyanion. The last amino acid in the pentapeptide is G79, which together with G80 shows the highest conservation of all amino acids apart from the catalytic triad (Figure 3-8B). Surprisingly in BSLA the substitution G79A, similar to the first 'G' in the GXSXG motif which is replaced by Ala in *Bacillus sp.*, is also active, effectively resulting in an active but very uncommon AHSMA. In addition the following Gly residue is also highly conserved, but can be substituted with G80[ACST] without a significant loss in the measured activity of the supernatant. Substitutions at these two positions are in direct contact to the main chain of β5 and most likely influence the orientation of S77 and M78.

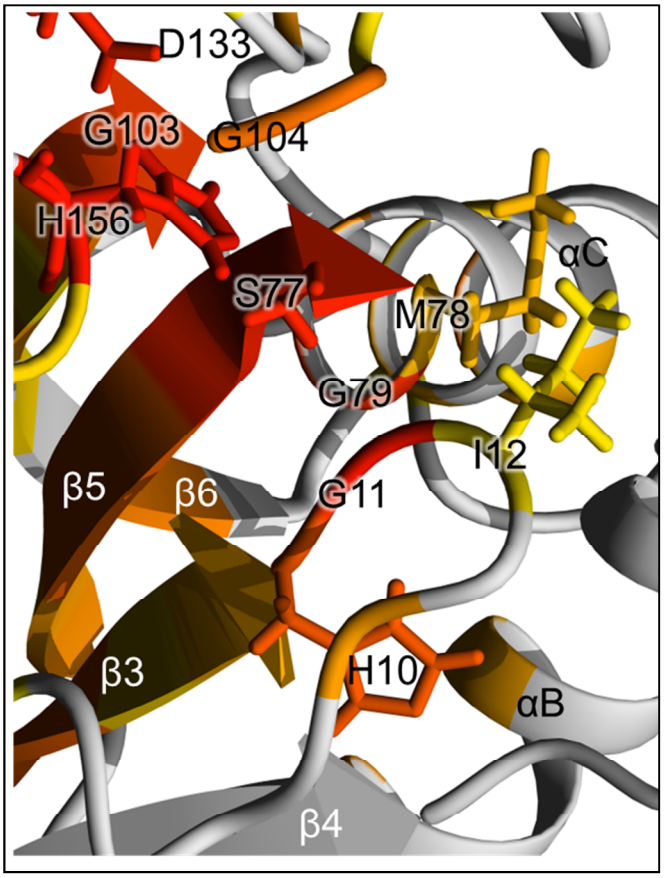


Figure 3-9 Oxyanion hole residues I12 and M78.

The backbone amide groups of I12 and M78 stabilize the transition state of the substrate during ester hydrolysis, the correct conformation depends directly on two Gly residues in position 79 and 11. The correct orientation of I12 is also governed by a β-turn that is also affected by substitutions with H10.

In addition, the screening also identified three amino acid positions with similarly high impact on activity outside of the GXSXG motif. Two of those are located at the end of β6 in positions G103 and G104, directly neighboring the catalytic elbow (see Figure 3-9). Any substitution at these two positions resulted in a significant reduction or complete loss of activity (see residual activities of

G103 and G104 in appendix). Not surprisingly also a change of the second residue I12 involved in the oxyanion hole formation was able to lead to inactive variants. I12 is located in the loop between β3 and αA in a β-turn (Figure 3-9). This explains why substitutions on G11 and H10 shown in Figure 3-9, required to form the β-turn, result in a loss of activity (see appendix).

The characteristic pentapeptide GXSXG is surrounded by at least three more highly conserved amino acids in the structure that are important to ensure the active conformation of the catalytic elbow in lipases. These additional amino acids are required to enable an interaction to the neighboring helices αE and αC and the correct orientation of all active site residues including the main chain interactions required to form the oxyanion hole.

The alignment guided sequence variability in related enzymes does not represent the true allowed variability. In fact, some common substitutions, for example M78Q and any substitution on the first ‚X' in the consensus motif led to a significant reduction or loss of activity. On the contrary, uncommon substitutions in highly conserved positions, for example. G79A, remained active. Since the active site is usually targeted for protein engineering of enzyme selectivity, these sites should not be left out due to their high conservation.

3.2.6 Change in the preferred substrate fatty acid chain length by substitutions at the rim of the active site cleft

Substitutions at or close to the active site can also have a less drastic impact on the enzymatic activity. Instead of inactivation, the substitution can change protein selectivity. Lipase catalyzed hydrolysis of triglycerides is an important step in the production of many industrially relevant compounds (Tan *et al.*, 2010). In lipases, the active site and the surrounding region are adapted towards hydrophobic substrates. The surface of the protein is composed of amino acids which are able to guide and bind the substrate in an orientation which enables the ester hydrolysis (Adlercreutz, 2013). One especially prominent example for BSLA showed a complete inversion of enantioselectivity upon mutation of N18 with *meso*-1,4-diacetoxy-2-cyclopentene as substrate (Boersma *et al.*, 2008a; Funke, 2005). Another interesting example was the conversion of the metagenomic esterase R.34 ($<C_5$) by random mutagenesis into a triacylglycerol lipase with a preference towards C_{12} substrates (Reyes-Duarte *et al.*, 2005).

The aim of the following experiments was to use a simple activity assay to characterize the full BSLA library to identify which regions of the protein are generally able to influence substrate binding. This understanding would allow future projects to use a small focused library with only those positions of the enzyme known to influence activity. The results will also allow a better understanding of the mechanism in substrate binding. A direct screening with the *p*NP-ester of 2-(4-isobutylphenyl)-propionic acid (*p*NP-Ibuprofen) as an example for a branched substrate was not successful because of the very low activity of the wild type BSLA and all variants which resulted in a bad noise-to-signal-ratio (data not shown).

Instead, the hydrolysis rates of different length fatty acids bound to *para*-nitrophenolate were used to monitor a change of chain length selectivity. Altogether three chain lengths were assayed: (i) *p*NP-butyrate (*p*NPB), which is an esterase substrate, so that a relative increase towards this substrate will indicate a change towards esterase-activity, (ii) *p*NP-palmitate (*p*NPP), the most common substrate for lipase activity measurements, used as reference, and (iii) *p*NP-stearate (*p*NPS) which will indicate an increase of activity towards a longer fatty acid.

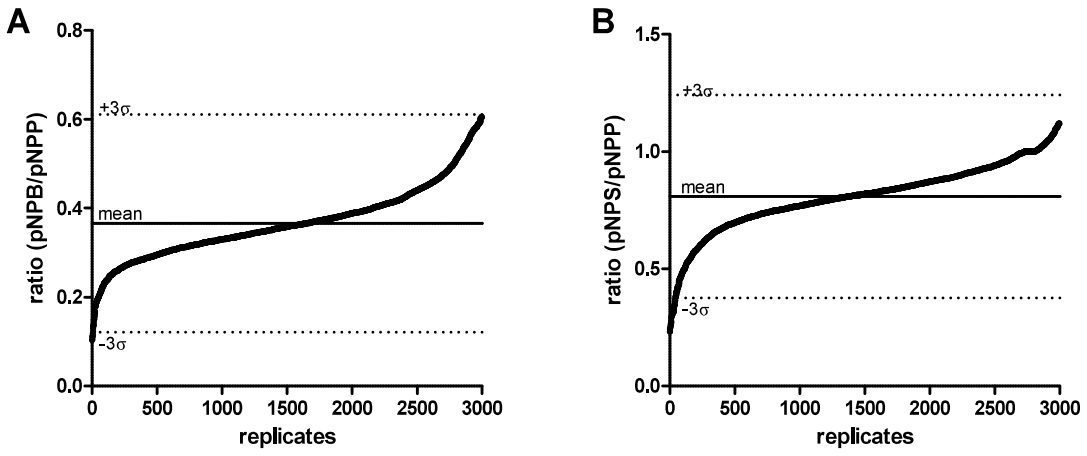


Figure 3-10 Dispersion of the relative ratios between the substrates for BSLA.

The ratio of (A) *p*NPB and (B) *p*NPS hydrolysis relative to *p*NPP hydrolysis was measured for 2,997 individual wild type clones as part of internal controls, shown in increasing order. The dotted lines represent the mean value ± 3σ, with σ the standard deviation of the 2,997 replicates. Representation derived from (Cambon *et al.*, 2010).

The activity measurements were normalized with the activity against *p*NPP since there were considerable differences in the absolute activity between variants similar to the previously discussed measurements in chapter 3.2.4. Yet, there were only very low variation between biological replicates of each variant, which indicates that the amount and activity of released enzyme into the supernatant varied depending on the amino acid substitution. Possible reasons could be differences in growth, expression, secretion, specific activity or protein aggregation, which cannot be distinguished by this screening assay.

The activity in the supernatant of cultures expressing the wild type was 83 U*ml^{-1} towards *p*NPB, 217 U*ml^{-1} towards *p*NPP and 183 U*ml^{-1} with *p*NPS. A change in the preference was monitored by a change of the relative ratio of *p*NPB : *p*NPP : *p*NPS in respect to the hydrolysis of *p*NPP, which in case of the wild type was 0.38 : 1.00 : 0.84. Every assay contained twelve wild type clones on fixed positions in the microtiterplate and four clones with the empty vector with no insert in the MCS as a negative control to correct for auto hydrolysis of the substrate (see methods 2.9.9). In addition, the 18 % wild type content of the BSLA library resulted in an average of about 17 additional randomly distributed wild type replicates (2,997 biological replicates in total). The dispersion of the relative ratio *p*NPB/*p*NPP (Figure 3-10A) and *p*NPS/*p*NPP (Figure 3-10B) of these replicates was used to evaluate the experimental spread due to pipetting errors or biological differences (Cambon *et al.*, 2010). As a consequence of an equal distribution the mean value ± 3σ includes 99.7 % of variants with a wild type-like chain length preference. This value was

arbitrary set as a threshold to monitor changes in the preference. A *p*NPB/*p*NPP ratio greater than 0.62 or lower than 0.14 (mean value = 0.38 ± 3 * 0.08) indicates a significant change in either *p*NPP or *p*NPB hydrolysis. Accordingly a ratio greater than 1.26 or lower than 0.42 (mean value = 0.84 ± 3 * 0.14) in the *p*NPS/*p*NPP ratio indicates a significant change in *p*NPP or *p*NPS hydrolysis. The result of this screening for with all variants against three substrates is supplied in the appendix of this thesis.

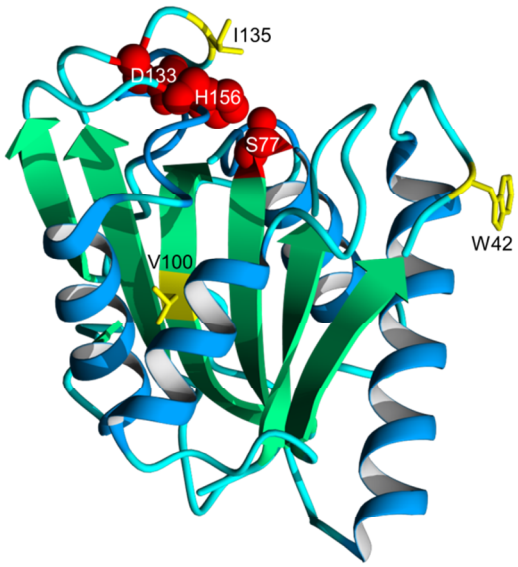


Figure 3-11 Location of substitutions causing a loss of activity against *p*NPP and *p*NPS.

3D-Structure model based on crystal structure (PDB: 1l6W) visualization created with YASARA (Krieger *et al.*, 2004).

In some variants this ratio was very large due to a complete loss of activity against the longer chain fatty acid substrates. Four variants have shown a complete loss of activity towards the two lipase substrates *p*NPP and *p*NPS, while remaining active against *p*NPB. Two of these variants were the results of substitutions at the same position, W42V and W42G. Position 42 is located at the surface of the protein in the loop between β4 and αB involved in the formation of the ridge of the active site (Figure 3-11). W42A, W42D and W42E led to complete inactivation against all substrates; all other substitutions remained active. Another substitution causing a loss of activity towards the two tested lipase substrates was V100Y inside β6, forming the protein hydrophobic core (Figure 3-11). This substitution shows only 45 % of wild type activity towards *p*NPB but no detectable activity towards *p*NPP and *p*NPS. The fourth substitution with a complete shift was I135R, which is located in a β-turn directly on top of the catalytic His156 and next to Asp133 (Figure 3-11). Similar to the other variants, this variant shows only a low residual activity to *p*NPB and no activity to *p*NPP and *p*NPS.

The experimental data does not contain variants that only lost esterase (*p*NPB) activity while remaining active against the two lipase substrates (*p*NPP, *p*NPS).

On closer examination, some variants showed a shift in their preference resulting in an increase of activity towards *p*NPB or *p*NPS (with *p*NPP being the reference). In total 32 variants from 11 positions showed an increased preference towards *p*NPB relative to the

*p*NPP hydrolysis. On the other hand 15 variants generated from substitutions at eight different amino acid positions showed an increased preference of *p*NPS over *p*NPP. Most of the variants show a generally reduced activity, but due to the experimental setup this could be the result of a lower amount of released enzyme (see also chapter 3.2.4).

The variants with a shift towards the hydrolysis of *p*NPB were all located in surface accessible positions of helical or random coiled structure (see Table 3-2). The activity ratio of *p*NPB:*p*NPP increased to an amount of up to 6.9 fold in W42I. This position was already identified as an important position, since it can also lead to a complete shift (Figure 3-11). Similarly also I135C shows a change in the preference, although the overall activity is also very low. Another prominent hot spot leading to many variants with a shift in the preference of fatty acid chain lengths is position Y49. The residue is at the beginning of αB inside of the active site cleft. The mostly polar substitutions found in the variants led to an increase of the ratio between 1.5 and 4.3-fold relative to *p*NPP hydrolysis.

In general, the results indicate that most of the substitutions in the variants with a preference towards *p*NPB have side chains with polar or charged properties.

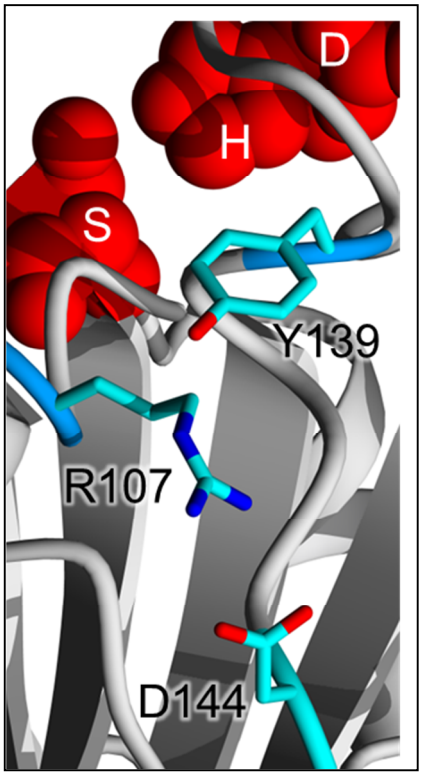


Figure 3-12 Salt bridge Y139-R107-D144.

3D representation of the BSLA crystal structure (PDB: 1I6W) with the side chains of R107, Y139 and D144 colored by element (carbon = turquoise, oxygen = red, nitrogen = blue), active site residues highlighted in red as ball representation (S77, H156, D133), secondary structure colored grey. Image created with YASARA (Krieger *et al.*, 2004).

There are some exceptions that can be explained based on neighboring residues. The most peculiar involves three residues (R107, Y139, D144) forming a salt bridge connecting αD with αE (see Figure 3-12). Interestingly in other lipases, for example LipA from *Pseudomonas aeruginosa (pdb: 1EX9)* and LipA from *Burkholderia glumae* (PDB: 1ES4) the same connection can be found at the corresponding part of the structure. Although, the interaction in these two examples is based on the formation of an intramolecular disulfide bridge, which is generally stronger, but probably less flexible than the salt bridge in BSLA. A mutational study of the LipA from *Pseudomonas aeruginosa* has shown a loss of stability after exchange of one of the Cys-residues against Gly (Urban *et al.*, 2001). In BSLA each of

the residues involved in the salt bridge has led to variants with a significant shift towards the short chain substrate (see Table 3-2). This region is not only structurally important, but also part of the active site cleft which has been suggested to bind the sn-1 chain of triacylglycerides (van Pouderoyen *et al.*, 2001). This change, away from a disulfide bridge, could be the result of an adaptation to oxidizing environments that would not support the formation of a disulfide bridge. On the other hand, the disulfide bridge has the advantage of an increased stability against electrostatic interactions, and is much stronger since it is a covalent bond.

The amino acid position K95 is involved in a similar network interacting with side chains from αB and αC. Also K170 (part of αF) is in a salt bridge with Y25 in αA. All of these residues result in variants with a shift in the preference with substitutions that introduce side chains with the opposite charge or hydrophobic properties.

All of the substitutions that cause a shift towards esterase substrates are very close to the active site. In two cases the amino acids increase in size (V100Y, I135R), and this most likely causes conformational changes which restrict the access to the active site and prevent the hydrolysis of long chain substrates. This is also supported by the a recently published study which proposed that V100A enhances packing of BSLA (Yun *et al.*, 2013), it is very likely that V100Y has the opposite effect. The role of position 42 is unclear but most likely invokes a change in the folding of the protein, since some of the substitutions at this position lead to inactive variants.

Unlike the variants found to shift the preference towards *p*NPB, the variants with an increased preference to *p*NPS were also found inside of the protein with no contact to the protein surface (Table 3-3). P5A and V7I located in β3 showed a low tolerance towards substitutions (see Figure 3-5). Although those two variants remain active, they most likely lead to conformational changes. Proline is a very special amino acid, required at this position to enable a sharp turn leading into β3, a substitution will likely change the orientation of the otherwise very flexible n-terminus. A high number of the residue side chains of the wild type amino acids from the identified positions are clustered around αB (namely P5, V7, F41 and Y49). Only two positions were identified in a different part of the enzyme. The first is Y139, that was shown to lead to a *p*NPB shift when substituted by either Lys or Asn (Table 3-2). The second is S162[CPTW] which resulted in shift to *p*NPS preference with a ratio of 1.8 over *p*NPP.

Table 3-2 List of variants with a shift towards *p*NPB hydrolysis

variant			vol. activity (U*ml^{-1})[a]			rel. activity[b]		location		
wtAA	pos	sub	*p*NPB	*p*NPP	*p*NPS	*p*NPB	*p*NPS	surface	SecStr[c]	
	wt		83.0	216.5	183.0	0.4	0.8	-	-	
F	17	Q	57.3	62.6	58.8	0.9	0.9	exposed	helix	αA
W	42	C	103.1	34.1	11.6	3.0	0.3	exposed	coil	β4/αB
		I	113.3	16.4	9.4	6.9	0.6	exposed	coil	β4/αB
		T	92.5	30.5	12.5	3.0	0.4	exposed	coil	β4/αB
Y	49	D	79.8	46.7	29.5	1.7	0.6	exposed	helix	αB
		E	71.0	28.2	25.4	2.5	0.9	exposed	helix	αB
		Q	101.8	23.5	20.8	4.3	0.9	exposed	helix	αB
		S	81.4	43.5	28.5	1.9	0.7	exposed	helix	αB
		T	78.3	51.5	23.2	1.5	0.5	exposed	helix	αB
		R	81.2	58.2	34.5	1.4	0.6	exposed	helix	αB
K	95	C	47.0	45.2	13.7	1.0	0.3	exposed	turn	αC/β6
		F	56.5	40.1	14.9	1.4	0.4	exposed	turn	αC/β6
		W	41.4	41.4	13.8	1.0	0.3	exposed	turn	αC/β6
		A	38.7	39.1	23.2	1.0	0.6	exposed	turn	αC/β6
R	107	D	49.9	31.0	30.7	1.6	1.0	exposed	helix	αD
		Q	92.4	24.7	6.9	3.7	0.3	exposed	helix	αD
		Y	72.3	27.2	19.4	2.7	0.7	exposed	helix	αD
I	135	C	17.1	17.9	14.2	1.0	0.8	exposed	coil	β7/αE
Y	139	K	81.4	56.9	8.2	1.4	0.1	exposed	helix	αE
		N	20.7	28.3	5.7	0.7	0.2	exposed	helix	αE
D	144	H	77.4	36.3	19.9	2.1	0.5	exposed	turn	αE/β8
		N	57.7	39.5	32.7	1.5	0.8	exposed	turn	αE/β8
		Y	64.4	47.0	36.5	1.4	0.8	exposed	turn	αE/β8
		R	64.1	50.0	36.8	1.3	0.7	exposed	turn	αE/β8
		Q	56.1	47.6	35.0	1.2	0.7	exposed	turn	αE/β8
		S	55.1	41.8	32.2	1.3	0.8	exposed	turn	αE/β8
		W	56.4	59.5	46.7	0.9	0.8	exposed	turn	αE/β8
Y	161	I	55.5	22.8	11.8	2.4	0.5	exposed	helix	αF
		L	61.9	18.4	12.2	3.4	0.7	exposed	helix	αF
S	162	K	84.1	54.3	28.8	1.5	0.5	exposed	helix	αF
		R	74.4	57.7	26.1	1.3	0.5	exposed	helix	αF
K	170	E	56.6	55.9	37.7	1.0	0.7	exposed	helix	αF

wtAA = amino acid in BSLA, pos = amino acid position, sub = introduced AA, surface = determined by accessible surface area as explained in methods, SecStrc = secondary structure element in the wild type of that position, wt = mean value of all wild type replicates
a) measurement of volumetric activity , based on the unspecific release of BSLA into the culture supernatant, no correlation with specific activity (Röllen, 2013)
b) relative to *p*NPP activity
c) coil regions are named based on the secondary structure elements which are connected through this loop, separated by a forward slash

Interestingly, variants with substitutions against a positively charged residue (S162K, S162R) at this position were able to shift the preference towards *p*NPB (see Table 3-2).

Overall the increased ratios range from 1:1 to 1:2.2 (*p*NPP:*p*NPS hydrolysis rate). In accordance to the amino acid substitutions causing a *p*NPB preference, most of the substitutions with a shift of the preference towards *p*NPS hydrolysis had side chains with aliphatic or hydrophobic properties. In some variants the shifts led to very low residual activities against *p*NPB, although without a complete inactivation.

Table 3-3 List of variants with a shift towards *p*NPS preference

variant			vol. activity (U*ml^{-1})[a]			rel. activity[b]		location		
wtAA	pos	sub	*p*NPB	*p*NPP	*p*NPS	*p*NPB	*p*NPS	surface	SecStr[c]	
	wt		83.0	216.5	183.0	0.4	0.8	-	-	
H	3	A	13.2	22.9	49.6	0.6	2.2	exposed	coil	n-term
P	5	V	10.7	15.8	34.3	0.7	2.2	buried	sheet	β3
V	7	I	9.6	15.5	30.5	0.6	2.0	buried	sheet	β3
A	15	E	5.3	27.5	27.5	0.2	1.0	exposed	coil	β3/αA
F	41	R	16.2	22.9	36.5	0.7	1.6	exposed	coil	β4/αB
		T	18.6	24.6	51.0	0.8	2.1	exposed	coil	β4/αB
		Y	11.8	23.1	32.2	0.5	1.4	exposed	coil	β4/αB
		M	34.5	49.2	59.8	0.7	1.2	exposed	coil	β4/αB
		N	14.9	43.8	56.9	0.3	1.3	exposed	coil	β4/αB
Y	49	C	38.1	62.8	78.7	0.6	1.3	exposed	helix	αB
Y	139	L	17.8	22.4	21.8	0.8	1.0	exposed	helix	αE
S	162	C	22.1	33.0	58.6	0.7	1.8	exposed	coil	β8/αF
		P	9.7	28.9	51.5	0.3	1.8	exposed	coil	β8/αF
		T	22.5	35.3	62.2	0.6	1.8	exposed	coil	β8/αF
		W	19.4	27.7	48.9	0.7	1.8	exposed	coil	β8/αF

wtAA = amino acid in BSLA, pos = amino acid position, sub = introduced AA, surface = determined by accessible surface area as explained in methods, SecStrc = secondary structure element in the wild type of that position, wt = mean value of all wild type replicates, n-term = n-terminal region of the enzyme
a) measurement of volumetric activity , based on the unspecific release of BSLA into the culture supernatant, no correlation with specific activity (Röllen, 2013)
b) relative to *p*NPP activity
c) coil regions are named based on the secondary structure elements which are connected through this loop, separated by a forward slash

This was expected since the substrate spectra of other lipases also allows the hydrolysis of smaller substrates, the widely used agar plate activity assay which is used to monitor lipase activity uses the esterase substrate tributyrin. An active site competent to accommodate long chain substrates generally also accepts smaller substrates (Berger

and Schneider, 1991; Pleiss *et al.*, 1998; Rangheard *et al.*, 1989). However, this means residues surrounding the active site most likely affect the binding of long chain substrates. This hypothesis has been supported from comparisons between BSLA and the very similar *Bacillus subtilis* lipase B (BSLB) with 74 % of identical amino acids (van Pouderoyen *et al.*, 2001). Interestingly, the differences in the enzymes are reflected in differences in substrate spectra. BSLB has been shown to have a lower preference towards the hydrolysis of C_{18} substrates compared to BSLA (Eggert *et al.*, 2000). The comparison of the amino acid sequences of BSLA and BSLB shows high similarities in the direct vicinity around the active site cleft (Figure 3-13A). This suggested an important role of amino acids at the rim of the active site involved in binding the fatty acid chains that show some differences between the two enzymes.

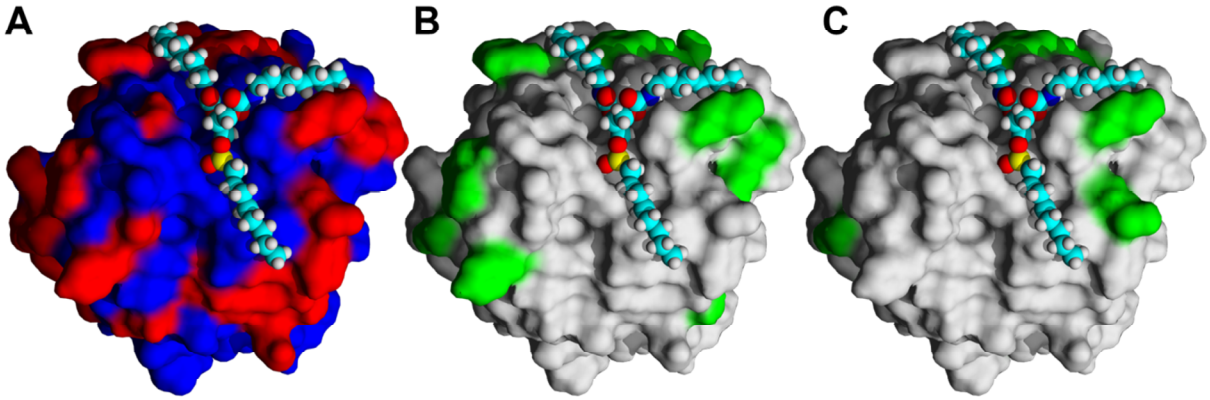


Figure 3-13 Surface representation around the active site of BSLA.

(A) amino acid residues identical in BSLA and BSLB are coloured blue, differences are indicated in red, (B) experimentally determined hot spots causing at least one significant change in the ratio between *p*NPB and *p*NPP are coloured green, (C) hot spots with at least one variant showing a significant change in the ratio between *p*NPS and *p*NPP are coloured green, all active sites contain a modelled C_8 inhibitor (modified from (van Pouderoyen *et al.*, 2001) as spheres with carbon in turquoise, hydrogen in white, oxygen in red, nitrogen in blue and phosphorus in yellow. Yasara was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004).

The experimentally determined ratios between the three substrates from all active variants compared to the ratio of the wild type was used to identify hot spots able to change the preference between the substrates. The highlighted hot spots shown in Figure 3-13B are based on any significant change in the *p*NPB:*p*NPP ratio found in this position. The location of hotspots is remarkably similar to the location of differences between BSLA and BSLB (Figure 3-13A). Accordingly also positions with substitutions that were able to change the *p*NPS:*p*NPP ratio are located on similar positions. The inhibitor molecule shown in Figure 3-13 (modified from (van Pouderoyen *et al.*, 2001) contains three C_8 fatty acid chains, to visualize the possible orientations of the single fatty acids from the *p*NP-substrates which were used for screening. The longer chain length of

the screened substrate molecules most likely interacts with more distant surface residues, which also explains why some of the identified residues are also further away from the active site.

It could be hypothesized that the high resemblance between the differences among BSLA and BSLA and the identified sites could have been due to high conservation and structural importance of all other residues. The mutagenesis would then have been highly biased to only those sites. From the results shown in 3.2.1 this can be excluded since all of the surface residues, which are not directly part of the active site cleft, permit a large number of substitutions without a loss of activity.

In summary, the screening of all active variants contained in the BSLA saturation library was able to identify a number of key residues that show the ability to change the chain length preference.

The screening used commercially available *p*NP-ester with C_4, C_{16} and C_{18} fatty acids to monitor a change in the hydrolysis rate. Variants with an increased preference towards the C_4 substrate were located on the protein surface and either replaced amino acids forming salt bridges in the wild type enzyme, or replaced hydrophobic with polar or charged residues.

A shift towards the C_{18} substrate was observed in considerably less cases with substitutions of opposite character compared to the rationales observed towards C_4 preference. In most variants, hydrophobic substitutions caused a significant shift in the substrate preference and substitutions were not exclusive to surface residues. The accumulation around αB suggests an important role of this helix in respect to the binding of long chain substrates.

The location of the substitutions shows a high resemblance to sites that are altered in the very similar BSLB, which was previously reported to have a lower preference towards C_{18} fatty acid substrates.

3.3 *Bacillus subtilis* lipase lipA as a model for detergent resistance

Catalysis often requires solvents and additives to increase substrate solubility or shift equilibria. Especially lipase substrates, which are often of hydrophobic character are commonly solubilized using detergents (Delorme *et al.*, 2011; Parris *et al.*, 1994; Todorov *et al.*, 2002). However, it is known that the detergent can also interfere with the protein activity or stability (Helistö and Korpela, 1998; Mogensen *et al.*, 2005). Besides substrate solubilization, detergents are routinely used to denature and bind proteins in an SDS-PAGE, while milder detergents are also used to solubilize membrane proteins or as agent for protein crystallization (Berger *et al.*, 2005; Seddon *et al.*, 2004; Velev *et al.*, 2005). Detergents are classified by the properties of the hydrophilic head group, which can be anionic, cationic, zwitterionic or non-ionic. Detergents are also known to show a concentration dependent change of appearance, in very dilute concentrations they are mostly found as single molecules until a concentration known as the critical micelle concentration (CMC) is reached. Above the CMC the hydrophobic side chains of the detergents cause the formation of an aggregated state known as a micelle.
In the following, BSLA was used as a model protein to study the contribution of each amino acid on the overall resistance against detergents. This was accomplished using the complete BSLA variant library and several representative detergents in varying concentrations to allow a comparison between different detergents and between different detergent concentrations.

3.3.1 Detergents show reproducible time-dependent activating and inactivating effects on BSLA activity

Every active variant was characterized towards a change in residual activity after incubation with one commonly used representative from each type of detergent (anionic SDS, cationic CTAB, zwitterionic SB3-16, and non-ionic Tween 80). The detergent concentration was chosen beforehand based on the inactivation of the wild type enzyme. An exemplary inactivation curve for the anionic detergent SDS is shown in Figure 3-14A using purified $BSLA_{His}$. Incubation in SDS shows a continuous, concentration dependent loss of residual activity, leading to a complete inactivation after 120 min with 40 mM of SDS. The loss of activity is also time dependent as seen in Figure 3-14B with 0.18 mM of

SDS and the wild type BSLA. The experimental results show an activation of BSLA after 5 min incubation in 0.18 mM SDS to a residual activity of 1.25 relative to a sample incubated in buffer only. This activation is followed by a relatively fast drop of activity until after about 40 min the residual activity settles to a value of 0.5 relative to the reference with no SDS. Between 40 and 120 min the residual activity remains nearly constant and is only reduced very slowly down to a relative value of 0.3 after 120 min of incubation. From the results shown in Figure 3-14 three SDS concentrations were chosen that have shown different residual activities indicated as red dotted lines. This evaluation was repeated for all detergents and the chosen concentrations are summarized in Table 3-4 together with the inactivation observed using wild type BSLA from the culture supernatant instead of a purified sample. Each library plate contained at least three wild type controls alongside a varying number of wild type replicates introduced from partial digestion during site saturation mutagenesis (chapter 3.1.2). These 2,997 biological wild type replicates were used for the determination of the mean and standard deviation of each experimental setup with data that was collected alongside with the screening (Table 3-4). In difference to the results with purified enzyme 0.18 mM SDS led to an activation of the wild type enzyme in the culture supernatant to 130 % of activity compared to the activity without SDS. The residual activity with 0.35 mM SDS was 58 %, similar to the results of the purified BSLA, while 0.7mM lead to a point of near inactivation with 8 %

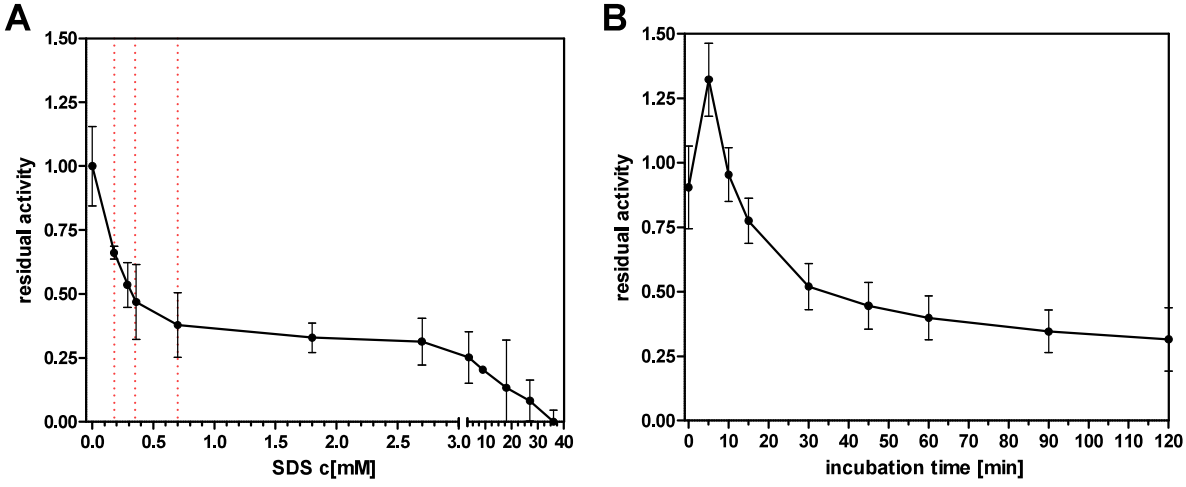


Figure 3-14 Change of residual activity in dependence of concentration and incubation time with purified BSLA.

Exemplary change of BSLA residual activity with the detergent SDS **(A)** after 120 min incubation at varying concentrations of SDS in 50 mM Tris-HCl pH 8. The residual activity was measured by addition of 0.5 mM *p*NPB. Residual activity is provided relative to BSLA in 50 mM Tris-HCl pH 8 without detergent (1 equals 100 %). Red dotted lines correspond to the three concentrations selected for library screening (0.18 mM, 0.35 mM, and 0,70 mM). **(B)** Time dependent change of residual activity with 0.35 mM SDS in 50 mM Tris-HCl pH 8 relative to a sample without SDS with increasing incubation time.

relative activity.

The incubation time was set to 120 min, after which the activity in both the buffer and the detergents was determined using a spectroscopic activity measurement with *p*NPB as substrate (see methods 2.9.10). Although *p*NPB is not a lipase but an esterase substrate it had the advantage that no additional detergents were needed to prepare and solubilize the substrate in buffer, which might have biased the results. Since the amount of enzyme in the supernatant varied depending on the variant, the resistance was calculated using the residual activity of each sample relative to a parallel incubation in buffer only. The change of residual activity was compared to the change observed in the wild type samples to determine if a variant showed an increased resistance or sensitivity towards the detergent (see example calculation in appendix 6.4).

Table 3-4 Detergents and concentrations used for resistance screening with experimentally determined standard deviations.

Type of detergent[a]	Detergent concentration[b]	Residual activity[c]	Standard deviation[d]
SDS (anionic)	0.18 mM	1.30	0.09
	0.35 mM	0.58	0.08
	0.70 mM	0.08	0.08
CTAB (cationic)	0.14 mM	0.41	0.10
	0.27 mM	0.39	0.09
	0.54 mM	0.33	0.08
SB3-16 (zwitterionic)	0.39 mM	1.22	0.35
	0.77 mM	1.14	0.32
	1.54 mM	0.95	0.28
Tween 80 (non-ionic)	0.04 mM	0.58	0.12
	0.08 mM	0.64	0.14
	0.16 mM	0.66	0.16

[a] chemical structure and IUPAC name provided in methods 2.9.10 .
[b] CMC-Values according to literature: SDS (7 mM); CTAB (1 mM); Tween 80® (0.012 mM); SB3-16 (0.01 mM) (Bhairi, 1997).
[c] wildtype residual activity after 120 min incubation in detergent and 50 mM Tris-HCl pH 8 relative to the activity in buffer only (= 1 or 100%). Mean value of 2997 replicates in microtiterplates. (methods 2.9.10).
[d] calculated from 2,997 biological wild type clones during screening.

The result of this experiment is the difference in residual activity between the wild type and all active variants (>0, increased residual activity compared to the wild type; <0, decreased residual activity compared to the wild type). The wild type values follow an equal distribution with standard deviations which are very similar throughout the concentrations of each detergent indicating that the inactivation was reproducible but

affected by a systematical error common for MTP based screening methods. From this a change larger than three times the experimentally determined standard deviation from 2,997 wild type clones (containing 99.7 % of wild type or wild type-like variants) was arbitrary defined as a significant change (more resistant >wt+3σ; less resistant<wt-3σ).

The frequencies of the observed changes in residual activity are summarized in Figure 3-15. As expected from results of previous studies most mutations that did not lead to complete inactivation in buffer have only little or no effect (Bloom and Arnold, 2009). The distribution shows that only 2 % were significantly increased and about 11 % were decreased in resistance depending on the experiment.

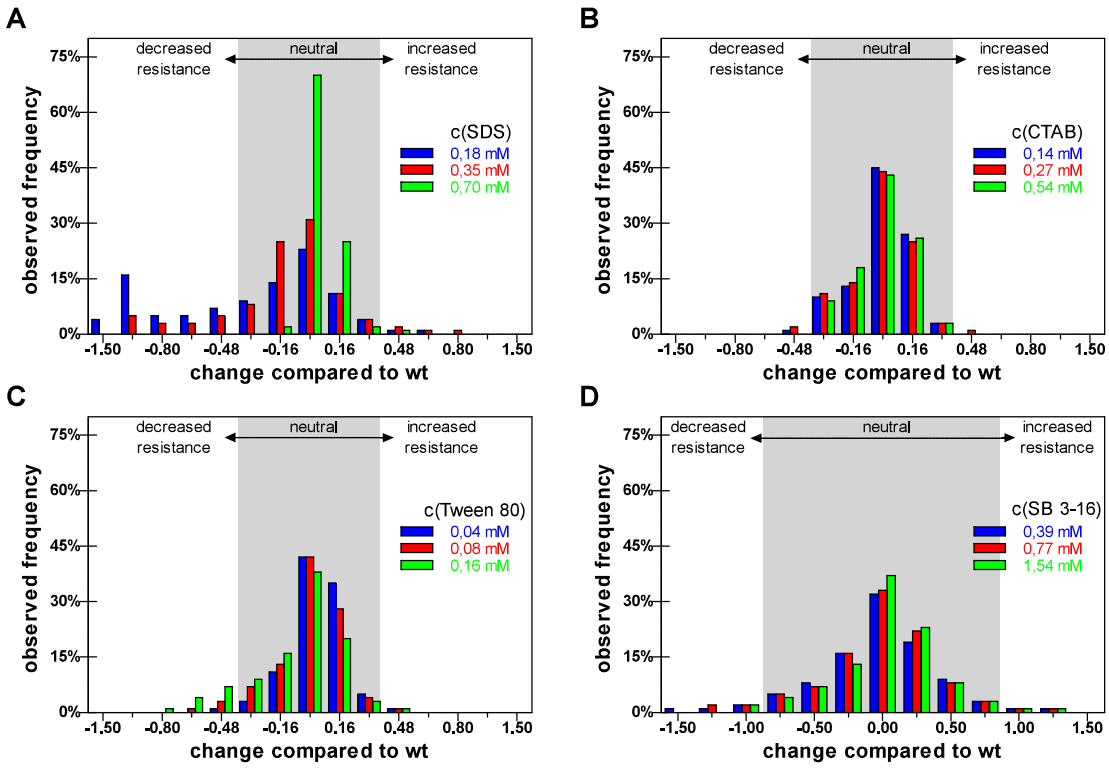


Figure 3-15 Distribution of observed changes in resistance during detergent screening.

Distribution of the observed changes in (A) SDS, (B) CTAB, (C) Tween 80 and (D) SB3-16 of all BSLA variants in respect to the wild type (0 = no change. mean value of the wild type replicates). The screening was performed with three different concentrations of each detergent. The total number of screened BSLA variants in one experimental set up was set to 100 %. The grey box depicts the neutral region of 3σ ± residual activity of the wild type. Any variants above or below this value were considered as either increased or decreased in resistance.

The magnitude of the increase in resistance is between 0.56 fold and 1.7 fold (or 56 % and 170 %, respectively) relative to the residual activity of the wild type. Variants with a residual activity higher than the wild type are the result of either an increased resistance or a larger activation. All of the distributions in Figure 3-15 are not equally distributed but

shifted towards one side or another. The results from the SDS screening are shifted to negative values because of an exceedingly high number of destabilizing variants compared to stabilizing variants, which shows that more mutations decreased the resistance than to increase it. The other three detergents show an increased number of slightly increased residual activities, which is an indication for a small change towards an increased activation in some of the variants, that cannot be reliably distinguished from wild type-like residual activities.

The underlying effects that can be drawn from the exchanged amino acids will be shown in more detail in the following chapters for each of the detergents.

Detergents show both inactivating as well as activating effects on BSLA activity, which is influenced by the incubation time and detergent concentration. The majority (60 - 90 %) of substitutions that did not inactivate the enzyme also showed no influence on detergent resistance while those variants that showed a change were mostly decreased in resistance. Only 2 % of single amino acid substitutions lead to variants with a significantly increased resistance.

3.3.2 Changes in residual activity in presence of the anionic detergent SDS

It is well known that SDS binds proteins in an approximate ratio of 1.35 g to 1 g of protein (Reynolds *et al*., 1970) and causes denaturation (Tanford, 1968) which is a basic principle for SDS-PAGE. From studies with bovine serum albumin (BSA) it was determined there are different stages of SDS/Protein interaction (Turro and Lei, 1995). There is an initial region (below CMC) in which SDS binds to specific sites of the protein and the interactions are of weak hydrophobic nature modulated by electrostatic interactions (Gelamo *et al*., 2002). These very low concentrations have also been shown to increase the observable helical content after addition to unfolded proteins (Jirgensons, 1976; Katz *et al*., 1972). Under these circumstances SDS can act as a protein stabilizer in which hydrophilic heads of SDS bind to surfaces on the protein with a high SDS affinity (Deep and Ahluwalia, 2001). Previous studies have also suggested a specific interaction with tyrosine residues which will be discussed later (Steinhardt and Stocker, 1973). With increasing SDS concentration, the hydrophobic interactions also increase and have been proposed as the main cause for denaturation (Steinhardt and Stocker, 1973).

The three different very low concentrations of SDS between 0.18 to 0.70 mM have been chosen to explore the effect in the initial binding region. The lowest SDS concentration of 0.18 mM causes 1.3 fold increase of activity in the wild type compared to buffer only (Table 3-4). Looking at the results from all variants in this concentration (Figure 3-15) it can be seen that there is a very large proportion of variants (30 %) which was significantly decreased in activity, only very few variants (3.1 %) were even more activated up to 1.20 fold relative to the wild type. After increasing the concentration to 0.35 mM SDS the wild type BSLA was shown to inactivate to a residual activity of 58% ± 8% relative to activity in buffer only. As for the variants 13.6 % were significantly decreased and 2.3 % were increased in residual activity compared to the variant in buffer only (up to 1.44 fold). At the highest concentration of 0.70 mM SDS only a small proportion was significantly more resistant (1.7 % of variants). Since the wild type was nearly completely inactive at this concentration the highest SDS concentration was only used for the analysis of more stabilizing variants.

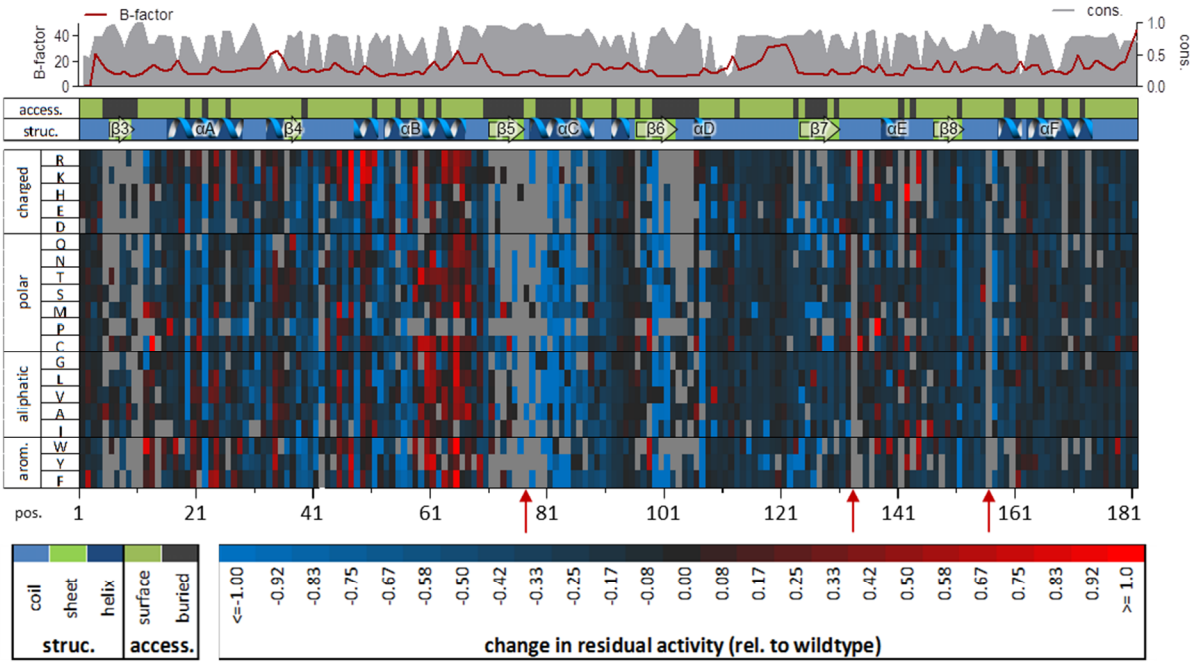


Figure 3-16 Relative change of residual activity compared to the wild type in 0.35 mM SDS as a heat map representation.

The amino acid positions beginning at the N-terminus are plotted along the x-axis (red arrow = active site residues). The amino acid in the variant is given in the y-axis. Blue coloration indicates a decrease, black no change and red coloration indicates an increase in the resistance compared to the wild type. Grey colored variants could not be measured due to very low or no activity. The extra rows show the secondary structure (struc.:green = β-sheet, dark blue = helices, light blue = turn or coil), surface accessibility (access.: dark grey = buried, green = surface exposed), conservation (see experimental section), B-factor (taken from the PDB 1i6w) which is present in the wild type at that position. The residual activities for all three concentrations are provided in the appendix.

The results of the screening with 0.35 mM SDS are illustrated as a heat map in Figure 3-16 along the primary sequence of BSLA. Most of the variants with an increased resistance were identified in regions of α-helical fold as well as some of the loop regions. Most of the positions with substitutions causing an increase in resistance are surface accessible. In particular, regions toward the n-terminus (positions 53 - 66) and a region between the catalytic Asp133 and His156 contain a large number of variants with a positive effect. The other α-helices do not contain that many variants with an increased resistance.

Variants with a decreased resistance were generally located in positions buried and inaccessible from the protein surface. These positions tend to be β-sheets and essential for the hydrophobic core of the protein (as discussed in chapter 3.2.2). A region between amino acid position 78 and 102 shows the highest number of substitutions leading to an increased SDS sensitivity. This region is surrounded by positions with a high number of inactive variants, indicating that this entire area is less tolerant towards amino acid substitutions. These positions are located in or close to the αC (positions 78-88), next to the active site residue Ser77.

Figure 3-16 also indicates the conservation within the bacterial lipases (Pfam_LIPASE2) for each position (methods 2.10). As expected highly conserved and most likely structurally important positions cannot be used as a target for optimizing SDS resistance. Low conserved regions on the other hand seem to be a very good target, these positions allow tailoring of the enzyme to the environment. The B-factor from X-ray data has successfully been used in a process called B-FIT to identify sites of maximal flexibility to guide the mutagenesis towards higher thermostability (Reetz *et al.*, 2006). The b-factor from the PDB 1l6W is also provided above of the heat map and shows five regions in which the b-factor is higher than in the rest of the enzyme. The first region (Trp31-Leu36) shows a slightly increased number of variants with a higher residual activity than the wild type. The second region with an increased B-Factor (Gln60-Lys70) covers part of the αB-helix, and indeed contains a larger number of variants with an increased resistance. However, the next three regions (Tyr86-Ala97; Arg107-Ile123; Lys170-Asn181) show

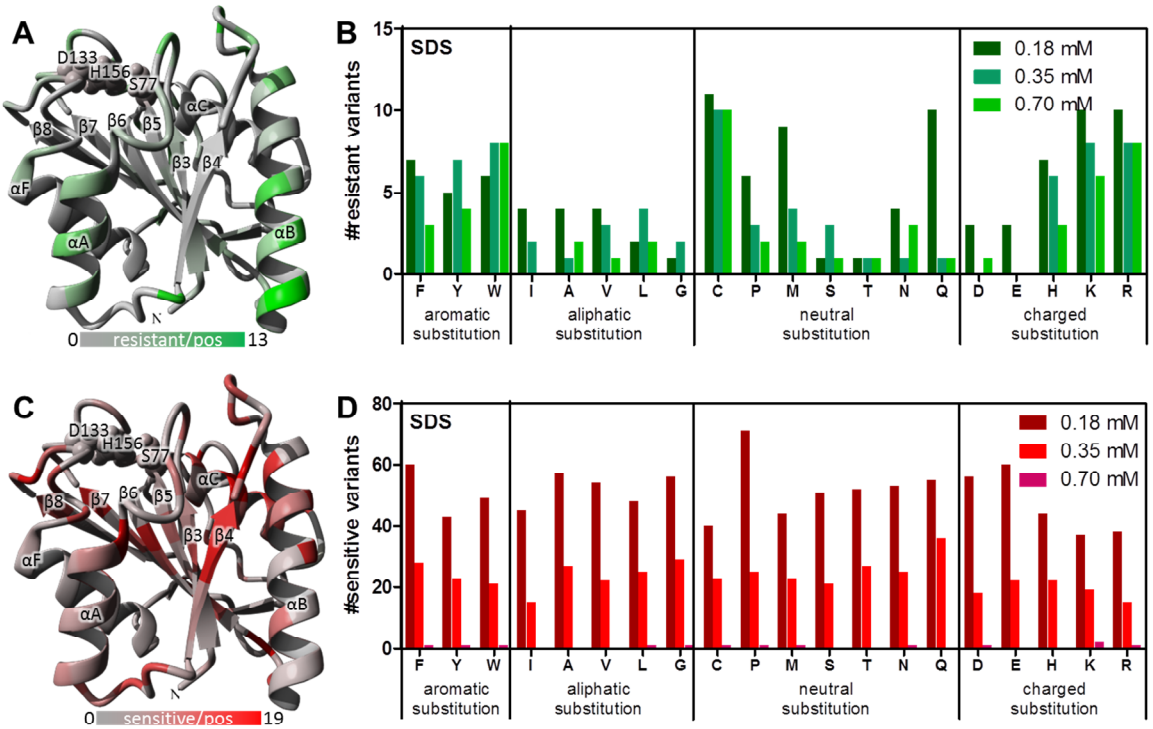


Figure 3-17 Summary of SDS screening results.

This Figure shows (**A) the location of hot spots for increased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly increased the residual activity after SDS incubation compared to the wild type BSLA, **(B) the frequency of substitutions** that have caused a significant increase in resistance. The indicated amino acids are those that have been introduced by the mutation. Each column of one group represents the result from the screening with one of the three concentrations used during screening. **(C) Hot spots for decreased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly decreased the residual activity after SDS incubation compared to the wild type BSLA along with **(D) the absolute number of substitutions among the significantly less resistant variants**. YASARA was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004). The side chains of active site residues are highlighted as ball and stick style atoms.

again no significant increase in the number of variants with higher detergent resistance. This result suggests that residue flexibility is not as relevant for detergent stability as for thermostability.

Noteworthy there are certain hot spot positions that have shown a high number of substitutions that led to the increase of resistance or increase of sensitivity, respectively. This shows an important role of that position and also of the amino acid present in the wild type BSLA. This can also be regarded as an indicator of how well suited the wild type residue at that position is towards an environment containing SDS. As expected αC but also αF, all β-sheets, and in general most positions buried inside of the protein contain positions in which the wild type residue is already well suited (Figure 3-17C). Accordingly the positions 53 - 66 which are within the αB helix that has shown a high number of substitutions with a significant improvement indicating that the wild type residues in this region are a potential weak spot for the destabilizing effects of SDS (Figure 3-17A). Other positions, for example 44 - 50, only show an increased resistance when substituted by a specific type of amino acid, in this case positively charged residues (see Figure 3-16). Accordingly, two of these hot spots in αB contain a negatively charged amino acid in the wild type (Asp64 and Glu65), and nearly every mutation had a positive effect on SDS resistance (see also results table in the appendix for detailed information). These examples seem to follow a general pattern which can be seen by the cumulative number of substitutions which were introduced and showed an increase in the resistance (Figure 3-17B). These highlight the significance of aromatic and positively charged amino acids. In particular, His, Lys, Arg were frequent substitutions in variants with an increased SDS resistance.

The change in resistance was calculated for all of the tested concentration and showed a very interesting tendency: With increasing concentration, the total number of variants with charged side chains decreases. This is opposed to the number of variants with Trp substitutions which stayed at approximately the same number (see Figure 3-17B). Aliphatic, polar and negatively charged residues were very rare in stabilizing variants, with the exception of Cys, which will be discussed in more detail later (chapter 3.3.6). This would agree with the theory that after the initial binding the hydrophobic interactions increase and cause the destabilization of the protein. The introduced aromatic substitutions seem to be able to counteract these effects to a small extend.

The above observations also agree with the cumulative number of substitutions causing a decreased resistance (Figure 3-17D). As shown in Figure 3-15 of the previous chapter, the lowest SDS concentration has shown a very high number of inactive variants while the highest concentration of SDS has already nearly inactivated the wild type and was not used to ascertain a decrease in resistance. The lowest number of variants with a decreased resistance was seen again with substitutions against Cys, His, Lys, and Arg. The highest number were caused by substitutions against Pro during the screening with the 0.18 mM SDS and with Gln for the screening with 0.35 mM SDS. This was also the only observable SDS concentration dependent effect among the variants with a decreased resistance.

Screening with the anionic detergent SDS was able to identify some very promising variants that were the result of a substitution at surface accessible residues in α-helical or loop regions, especially αB.
In particular, the introduction of residues with a positive charge had a high impact towards an increased SDS resistance. The results also showed the importance of aromatic residues as well as the polar Cys.
Increasing SDS concentrations showed a decreasing importance of the charged residues. The positive effect introduced through the substitution with aromatic amino acid was shown to be mostly concentration independent in case of Trp substitutions.

3.3.3 Negatively charged substitutions can increase resistance towards the cationic detergent CTAB

CTAB is a cationic detergent often used for molecular biology or chemical synthesis. Similar to SDS it is sometimes used for a CTAB-PAGE, which is useful for proteins with many negative charges, for instance glycoproteins (Buxbaum, 2012; Simpson, 2010). In contrast to SDS the interactions of the hydrophobic tail were shown to outweigh the interaction seen with the hydrophilic positively charged head group (Subramanian *et al.*, 1984). However, a more recent study focusing on BSA/CTAB complexes indicated both the head group and the hydrophobic tail are able to affect aggregation (Sharma *et al.*, 2010) depending on the concentration being applied (Gull *et al.*, 2009).

The three concentrations of CTAB (0.14, 0.27, and 0.54 mM) which were used for the screening in this thesis proved to decrease the activity of the wild type to 33 % - 41 % relative to the activity in buffer without detergent (Table 3-4). The overall screening results show the smallest total number of variants with an increase or decrease of resistance among all screened detergents. The total number of significantly changed variants was <1 % with an increase of resistance and about 11 % with and decrease of resistance depending on the CTAB concentration. In addition, the magnitude of change that can be achieved with one amino acid is smaller than with the results with SDS, the change of variants was increased by 0.8 – 1.8 fold compared to the wild type (Figure 3-15B).

The screening results with CTAB show only three positions in the BSLA amino acid sequence that seem to be very disadvantageous as shown by a large number of possible variants at these sites with an increased resistance compared to the wild type, these are Thr47, Ile135 and Asp144 (Figure 3-18).

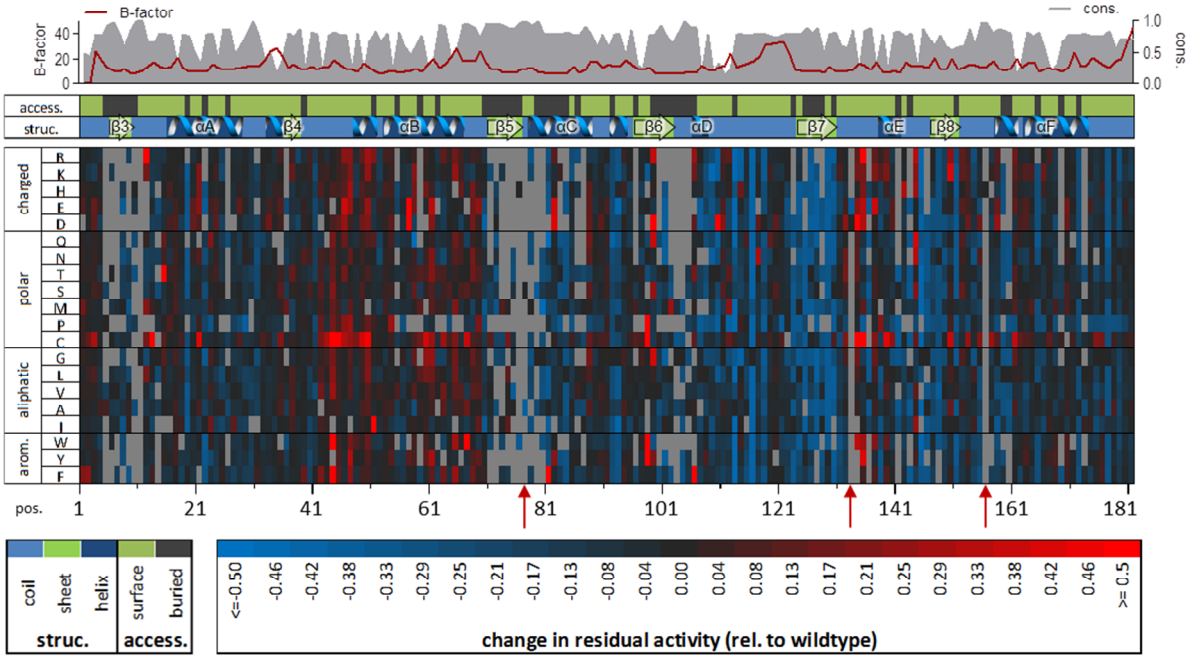


Figure 3-18 Relative change of residual activity compared to the wild type in CTAB as a heat map representation.

The amino acid positions beginning at the n-terminus are plotted along the x-axis (red arrow = active site residues). The amino acid in the variant is given in the y-axis. Blue coloration indicates a decrease, black no change and red coloration indicates an increase in the resistance compared to the wild type. Grey colored variants could not be measured due to very low or no activity. The extra rows show the secondary structure (struc.:green = β-sheet, dark blue = helices, light blue = turn or coil), surface accessibility (access.: dark grey = buried, green = surface exposed), conservation (see experimental section), b-factor (taken from the PDB 1i6w) which is present in the wild type at that position. The residual activities for all three concentrations are provided in the appendix.

The αA and αB show clearly less variants with an increased resistance, most substitutions in this region had a neutral effect. In addition, the αC is not as predominant as with SDS (Figure 3-18 and Figure 3-19A).

Substitutions with an increase in resistance occurred in 68 % of cases in loops and to 31 % in helices, which is dramatically different to SDS with 37 % in loops and 55 % in helices. After closer inspection, most substitutions with a positive effect seem to accumulate in loops close to the active site. All the side chains of the amino acids at these positions are facing toward the surface of the protein in the wild type structure. Accordingly, mutations in the β-sheet motifs or other positions in the protein that had no surface accessibility decreased the resistance against CTAB (Figure 3-18 and Figure 3-19C).

As before with SDS, there is no trend based on conservation or flexibility (Figure 3-18).

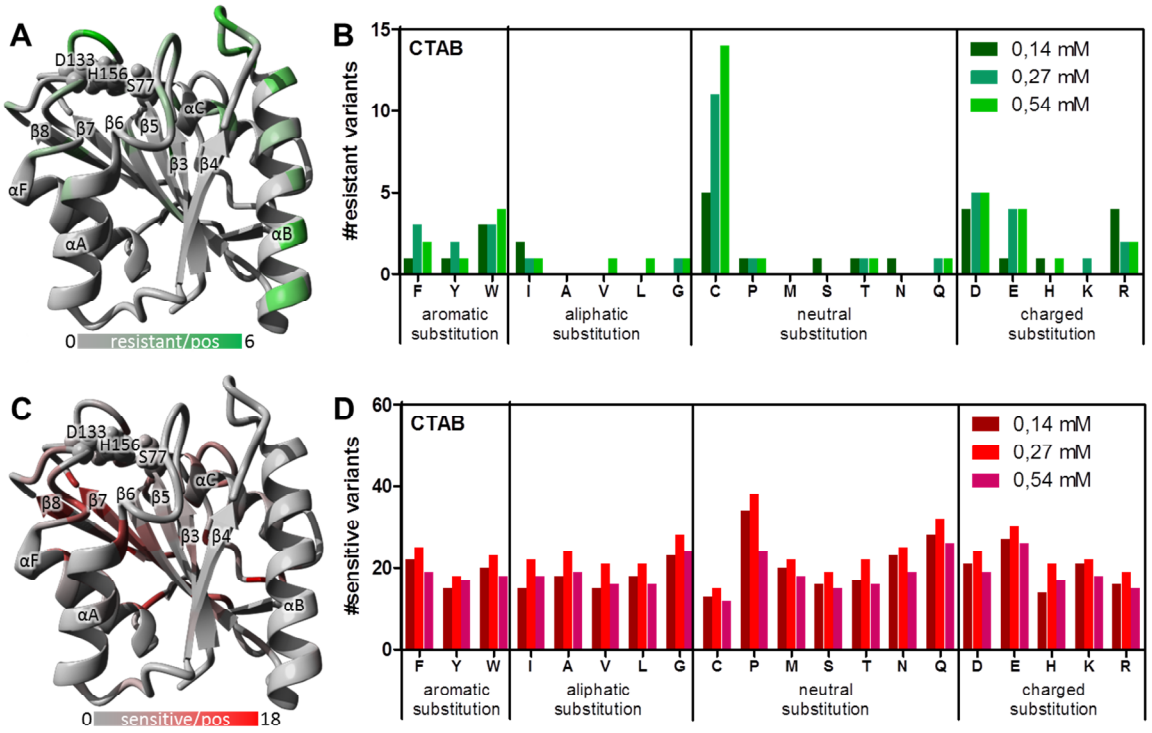


Figure 3-19 Summary of CTAB screening results.

This Figure shows (**A) the location of hot spots for increased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly increased the residual activity after CTAB incubation compared to the wild type BSLA, **(B) the frequency of substitutions** that have caused a significant increase in resistance. The indicated amino acids are those that have been introduced by the mutation. Each column of one group represents the result from the screening with one of the three concentrations used during screening. **(C) Hot spots for decreased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly decreased the residual activity after CTAB incubation compared to the wild type BSLA along with **(D) the absolute number of substitutions among the significantly less resistant variants**. YASARA was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004) The side chains of active site residues are highlighted as ball and stick style atoms.

The most frequent introduced amino acid with a positive effect (Figure 3-19B) was Cys and the negative charged amino acids Asp and Glu. Noteworthy, the number of observable Cys variants with an increase in resistance was dependent on the concentration of CTAB. The substitution with Asp or Glu was of advantage towards the resistance against the effects of CTAB indicating that electrostatics are an important factor, similar to SDS but of the opposite charge since the detergent is also of opposite charge. In some cases also Arg and the group of aromatic amino acids (Phe, Tyr, Trp) had a positive effect so next to electrostatics hydrophobic interactions seem to be important for the resistance against the effects of CTAB. All other substitutions were generally not involved in increasing the resistance.

The most substitutions resulting in more sensitive variants were caused by Pro, the least were observed with Cys (Figure 3-19D).

The frequency of substitutions among significantly more sensitive variants (Figure 3-19D) indicates that the substitution with Glu and Asp can also have the opposite effect. This suggests that the location of the charged residue is of high importance and can decide whether the introduction of an additional negative charged residue has a beneficial or detrimental effect on the resistance of the enzyme.

Screening with the cationic detergent CTAB was able to identify some very promising variants that were the result of substitutions at surface accessible residues in α-helical or loop regions, especially αB similar to the regions seen with SDS.

Also similar to SDS the introduction of Cys was often beneficial for the resistance towards CTAB. The next most prominent type of substitutions introduced negative charged amino acids.

Increasing CTAB concentrations showed an increase in variants with a significant resistance increase when substituted with Cys, while the observed frequency of all other amino acid substitutions was generally concentration independent.

3.3.4 The zwitterionic SB 3-16 shows a combination of effects from the anionic and cationic charge

Zwitterionic detergents like sulfobetaine SB3-16 have been shown to be very suitable for membrane protein solubilization without denaturation of the protein in the process (Gonenne and Ernst, 1978). They are also being used for isoelectric focusing and 2D electrophoresis since the native charge of the protein is not altered. Due to the presence of a strongly basic quaternary ammonium ion and an equally strong acidic sulfonate ion, zwitterionic detergents have been reported to preserve the zwitterionic character over the entire pH range (Lund *et al*., 1989).

The concentrations used for resistance screening towards SB3-16 are listed in Table 3-4 together with the activity change in the wild type control. The lowest of the used concentrations (0.39 mM) had an activating effect of 1.2 fold on the activity of wild type BSLA compared to a sample which was also incubated for 120 min in a solution with only buffer. The activating effect decreases with increasing concentration. The concentration of 0.77mM resulted in a residual activity 1.1 fold higher than in the buffer only sample. The highest concentration of SB3-16 which was at the maximum of solubility in the used buffer resulted in no activation (0.95 fold). Although experiments were run in parallel, the standard deviation was considerably higher which also meant that the significant increases also needed to be higher compared to the other detergents. The overall results show a much broader spread of the measured activities but also a higher magnitude of the change introduced by single amino acid exchanges. These high changes also relate to the high standard deviation. Changes of as high as 2.7 fold compared to the residual activity of the wild type were measured. The total number of variants that was increased in resistance was 2 %, and 5 % were decreased in resistance against SB3-16 (Figure 3-15D).

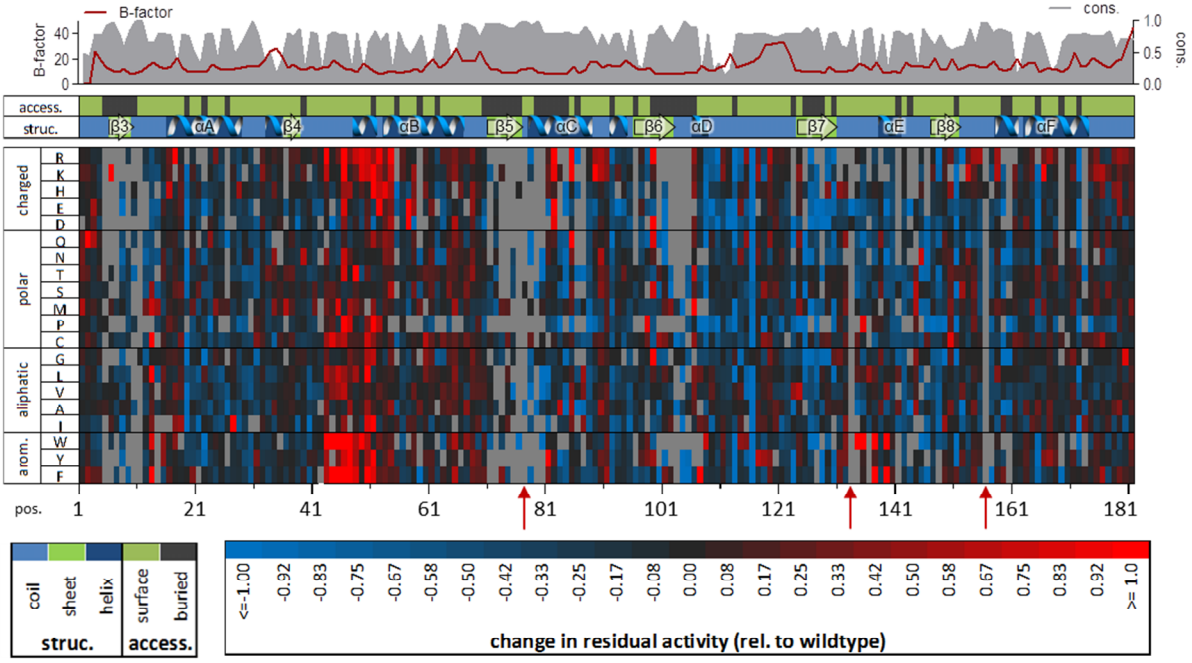


Figure 3-20 Relative change of residual activity compared to the wild type in SB3-16 as a heat map representation.

The amino acid positions beginning at the n-terminus are plotted along the x-axis (red arrow = active site residues). The amino acid in the variant is given in the y-axis. Blue coloration indicates a decrease, black no change and red coloration indicates an increase in the resistance compared to the wild type. Grey colored variants could not be measured due to very low or no activity. The extra rows show the secondary structure (struc.:green = β-sheet, dark blue = helices, light blue = turn or coil), surface accessibility (access.: dark grey = buried, green = surface exposed), conservation (see experimental section), B-factor (taken from the PDB 1I6W) which is present in the wild type at that position. The residual activities for all three concentrations are provided in the appendix.

The heat map representation shows that significantly increased variants are again more commonly located in surface accessible regions, in positions that are in agreement with the sites identified with SDS and CTAB resistance. Especially the amino acid positions in the N-terminal region of the αB and in the loop leading to it show a great number of variants able to increase the resistance towards SB3-16. Similar to the results from SDS and CTAB the conservation and the b-factor were no reliable indicator for the positions that upon substitution resulted in variants that were able to increase the resistance towards SB3-16.

In particular, substitutions in loops close to the active site show a high significance (Figure 3-21A). Most of the variants with an increased resistance were also seen in the results of either the negatively (SDS) or positively (CTAB) charged detergent. Surprisingly, there were also variants that were only identified with SB3-16, for example N166K which showed only a minor increase in resistance with CTAB was one of the most significantly increased variants, located in αF-helix which otherwise was not

identified among BSLA variants with an increased resistance against detergents (Figure 3-20).

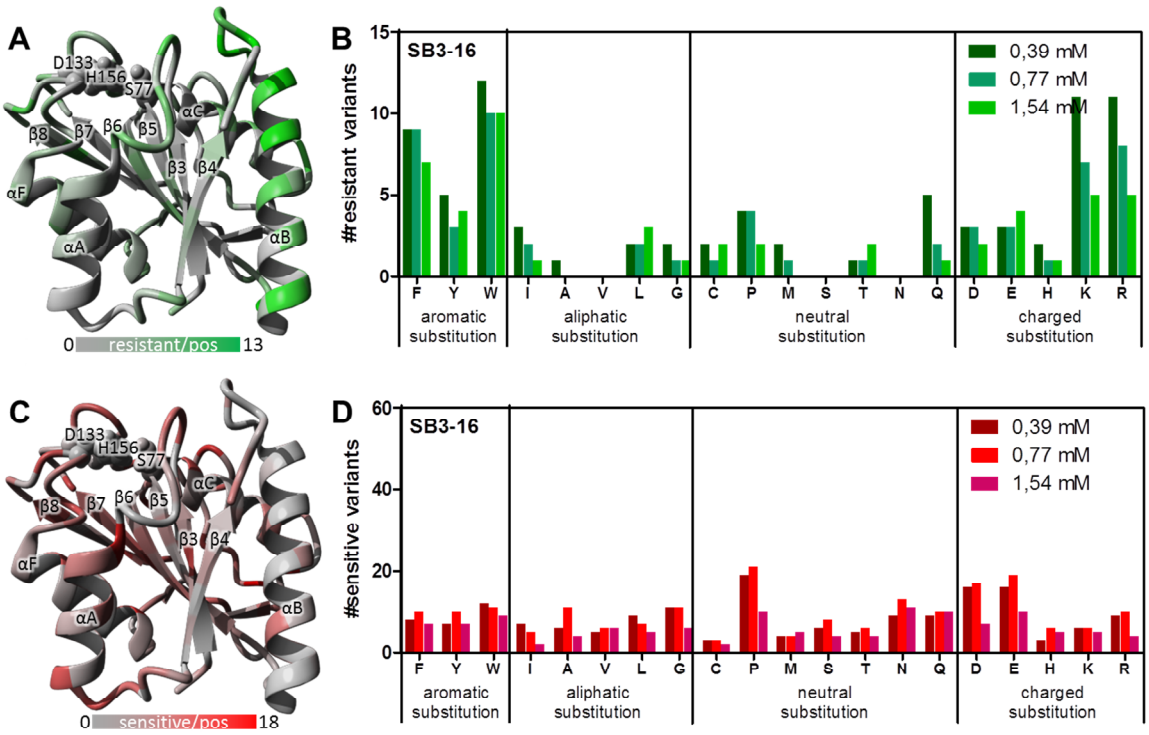


Figure 3-21 Summary of SB3-16 screening results.

This Figure shows (**A) the location of hot spots for increased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly increased the residual activity after SB3-16 incubation compared to the wild type BSLA, **(B) the frequency of substitutions** that have caused a significant increase in resistance. The indicated amino acids are those that have been introduced by the mutation. Each column of one group represents the result from the screening with one of the three concentrations used during screening. **(C) Hot spots for decreased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly decreased the residual activity after SB3-16 incubation compared to the wild type BSLA along with **(D) the absolute number of substitutions among the significantly less resistant variants**. YASARA was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004) The side chains of active site residues are highlighted as ball and stick style atoms.

Contrary to the already discussed detergents, the experiments with SB3-16 identified only very few Cys substitutions with the ability to increase the resistance of BSLA towards the zwitterionic detergent (Figure 3-26B). Other than that the observed substitutions show a mixture of patterns which were observed with SDS and CTAB. Both, positive and negatively charged substitutions were of advantage for the residual activity of the BSLA variants. Lys and Arg were observed to a higher frequency than Asp and Glu. As before, there is a trend towards a decreasing number of Lys and Arg with increasing concentration of detergent. Also aromatic substitutions were able to increase the resistance, especially Trp. Aliphatic, neutral and His substitutions were observed in very low frequency among the resistance increasing substitutions. The distribution actually resembles the frequency observed with SDS to a very large degree, which

indicates a greater influence of the anionic charge and the hydrophobic tail of the detergent on the loss of activity compared to the positive charge. Variants with a decreased resistance towards SB3-16 show no prominent hot spots (Figure 3-26C). The frequency of substitutions shown in Figure 3-26D, shows overall very low numbers, of which the highest is again Pro followed by substitutions against Glu and Asp.

The results of screening with the zwitterionic detergent SB3-16 shows a higher range of the relative change of residual activity but also in the standard deviation among the wild type clones.

In agreement with previous observations, most of the beneficial substitutions occurred at surface accessible residues inside of α-helical or loop regions.

The distribution of the amino acids in those variants shows a high number of aromatic substitutions along with charged amino acids. In particular, Trp and the positively charged residues Lys and Arg were often introduced with a resistance increasing effect.

The occurrence shows a similar concentration dependent decrease of variants with charged residue substitution as observed with SDS. All other substitutions show no concentration dependent change of occurrence.

3.3.5 The nonionic Tween 80 interferes with hydrophobic interactions

The nonionic detergent Tween 80 is a very common detergent used as an emulsifier for food preparation and pharmaceuticals. The hydrophilic head is comprised of polyoxyethylene groups, the lipophilic group is an oleic acid. In higher concentrations this detergent is known to stabilize proteins and helps to solubilize membrane proteins. Tween molecules can accommodate into the hydrophobic cavities and have been shown to interact with hydrophobic regions on the protein surface (Ruiz-Peña *et al.*, 2010). Tween 80 was also successfully used to enhance the enantioselectivity along with enzyme activity for the hydrolysis of ketoprofen ester using the *Candida rugosa* lipase OF (Liu *et al.*, 2000).

The screening was performed in buffer with three different concentrations between 0.04 mM and 0.16 mM of Tween 80. All of these concentrations reduced the activity of the wild type BSLA. The lowest concentration of 0.04 mM Tween 80 caused a reduction of relative activity to 58 % compared to the activity without Tween 80. With increasing concentration the activity of the wild type was slightly increased (64 % with 0.08 mM and 66 % with 0.16 mM, Table 3-4). Similar to the previously discussed detergents the screening of all possible single site mutants showed more variants with a significant decrease in resistance than an increase. The total number of more resistant variants was 2 % with an increase of up up to 1.87 in residual activity. Compared to this, the number of variants with a decrease in resistance is 13 % (Figure 3-15C). Below the 3σ value chosen as a threshold to distinguish wild type like variants from variants which are changed, it can be seen that there are twice as many variants with a little increase of residual activity than variants which were slightly decreased. These overall only minor increases are difficult distinguish from the background of wild type-like variants.
The results from this screening confirm previous observation that have shown a great importance of the region containing the αB-helix. Hence, this region contained the highest number of variants at which the resistance of BSLA was increased by a variety of substitutions compared to all other secondary structure elements (see Figure 3-22). Interestingly the results of the ionic detergents showed more substitutions towards the end of αB, while more Tween 80-resistant variants were the result of substitutions at the beginning of αB.

The substitutions occurred in general on surface exposed positions with low conservation (less than 70 % among the bacterial lipases). The significantly increased variants were found on positions within the loops close to the active site (Figure 3-23A).

As one example the site saturation of Ile12, important for the oxyanion hole (see 3.2.4), resulted in three variants which significantly increased the activity in presence of Tween 80. In all of these variants the residue was substituted with an aromatic residue. Substitution with Gly, Asn or Gln significantly decreased the resistance. The neighboring Gly13 shows similar results but only when substituted with either Tyr or Phe. Unlike Ile12, Gly13 also increased the resistance when substituted with Cys here only Glu had a significantly decreasing effect on resistance.

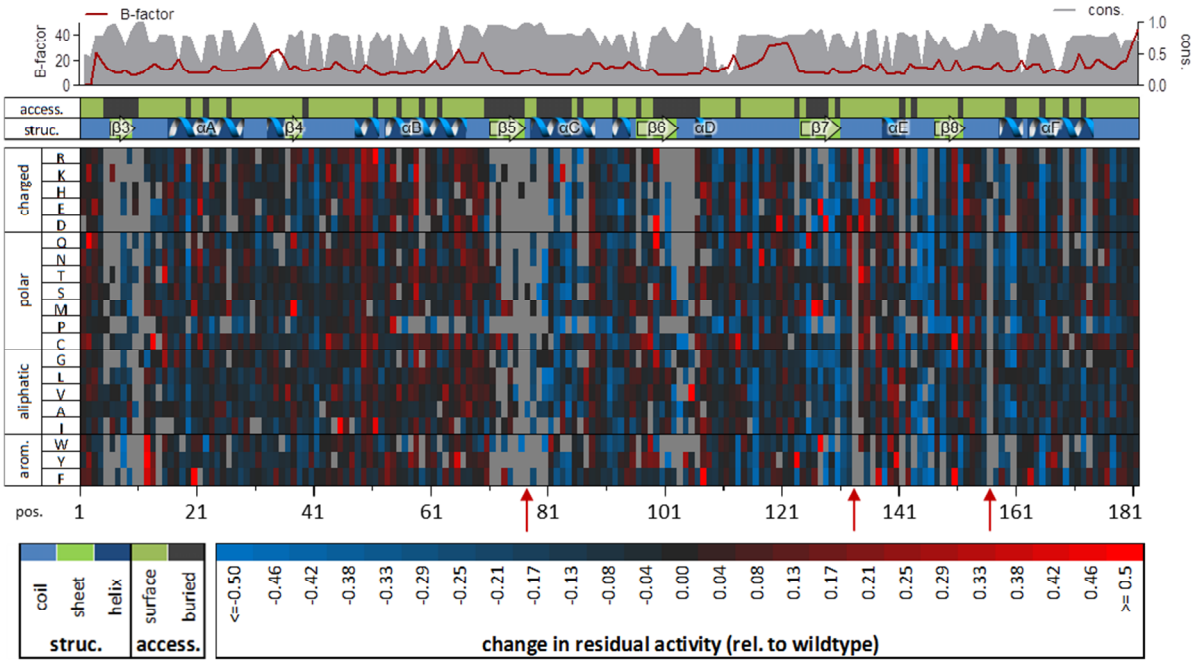


Figure 3-22 Relative change of residual activity compared to the wild type in Tween 80 as a heat map representation.

The amino acid positions beginning at the n-terminus are plotted along the x-axis (red arrow = active site residues). The amino acid in the variant is given in the y-axis. Blue coloration indicates a decrease, black no change and red coloration indicates an increase in the resistance compared to the wild type. Grey colored variants could not be measured due to very low or no activity. The extra rows show the secondary structure (struc.:green = β-sheet, dark blue = helices, light blue = turn or coil), surface accessibility (access.: dark grey = buried, green = surface exposed), conservation (see experimental section), B-factor (taken from the pdb 1I6W) which is present in the wild type at that position. The residual activities for all three concentrations are provided in the appendix.

In general there are only very few trends in the substitution pattern (Figure 3-23B). These patterns were far more evident for the other detergents, shown in the previous chapters. The distributions of the amino acids show no clear pattern towards a certain kind of introduced amino acids based on chemical properties of the amino acids. Only the group

of aliphatic substitutions seems to have led very rarely to variants with an increased resistance towards Tween 80 (Figure 3-23B).

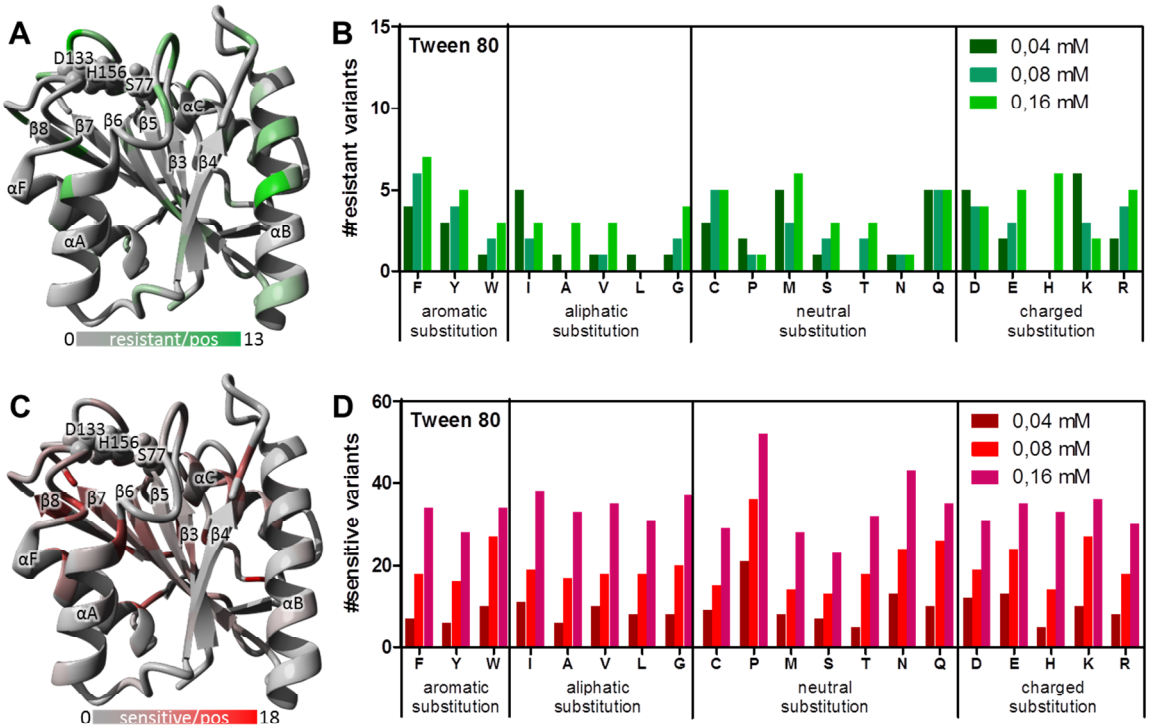


Figure 3-23 Summary of Tween 80 screening results.

This Figure shows (**A) the location of hot spots for increased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly increased the residual activity after Tween 80 incubation compared to the wild type BSLA, **(B) the frequency of substitutions** that have caused a significant increase in resistance. The indicated amino acids are those that have been introduced by the mutation. Each column of one group represents the result from the screening with one of the three concentrations used during screening. **(C) Hot spots for decreased resistance** with the highest number of substitutions that have significantly decreased the residual activity after Tween 80 incubation compared to the wild type BSLA along with **(D) the absolute number of substitutions among the significantly less resistant variants**. YASARA was used for visualization *(*Krieger *et al.*, 2004) The side chains of active site residues are highlighted as ball and stick style atoms.

The significantly decreased variants were a result of substitutions in positions scattered all over the sequence, but mainly at one of the β-sheets or loop regions (Figure 3-23C). Pro was again the amino acid substitution with the highest frequency among the more sensitive variants (Figure 3-23D), while Ser shows the lowest frequency. The number of more resistant variants did not change greatly with increasing concentration of Tween 80, although the number of substitutions with an increased sensitivity increased significantly, while the overall distribution among the each amino acids remained constant.

In summary, the screening of resistance against Tween 80 has shown very different results compared to the other three charged detergents. The substitutions able to increase the resistance occurred at many different positions in the BSLA sequence. Unlike before, the most significant variants were the result of substitutions inside of β-sheet regions. However also other sites, for example αB, which was also observed during screening with the ionic detergents were often substituted in variants with an increased resistance.

The results do not indicate a certain type of introduced amino acid on the basis of the chemical properties of the residue side chain, except of Pro which has led to the highest number of sensitive variants.

3.3.6 Cysteine introduces the most dramatic changes among the single amino acid substitutions

As described before, a full library of all possible single amino acid exchanges in *lipA* from *B. subtilis* was screened towards changes in protein detergent resistance. The results of the screening identified a number of electrostatic and hydrophobic interactions but also a very high number of exchanges against Cys. In fact, Cys substitutions showed the highest occurrence among the variants with an increased resistance towards SDS and CTAB. The screening of resistance against Tween 80 and SB3-16 identified considerably less Cys substitutions.
The distribution of the frequency in which Cys was introduced and caused a decrease in resistance showed that Cys substitutions always occurred in a lower frequency than most of the other amino acids (see previous chapters, Figure 3-17D, Figure 3-19D, Figure 3-21D, Figure 3-23D). In particular, the results from SB3-16 and CTAB showed that Cys substitutions occurred in the lowest frequency among variants with a decreased resistance – even lower than Ala substitutions.

Since every possible substitution was screened, the results contain what would have been a complete cysteine-scanning experiment similar to otherwise very common Ala-scanning experiments (Cunningham and Wells, 1989). In literature there are many examples covering the advantages of introducing an artificial disulfide bridge to increase protein stability (Beek *et al.*, 2014; Dombkowski *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2013). Disulfide bridges are known to be very important for the structural stabilization of many extracellular peptides and protein molecules (Wedemeyer *et al.*, 2000).

The increased resistance is unlikely a result of an intramolecular disulfide bridge because the wild type BSLA does not contain a Cys residue and the library only introduced single site substitutions. A more likely hypothesis arises from the location of the beneficial substitutions, which were all identified at surface exposed positions of the wild type BSLA structure. This chapter is focused on the possibility and implications of interprotein disulfide bridges between two BSLA molecules.

The impact on detergent resistance of each cysteine substitutions was mapped onto the 3D structure of the wild type enzyme as presented in Figure 3-24A (PDB: 1I6W). The

coloration indicates the change in detergent resistance relative to the wild type as a mean value of all detergent resistance experiments at the second highest detergent concentration that was also used to generate the detergent resistance screening heat maps (3.3.2 - 3.3.5). The most significant Cys substitutions (G13C, K44C, Y49C, N50C, Q60C, M134C and Q150C) were a result of an exchange with a residue on the surface of the protein. The variants G13C, K44C and M134C are located on the rim of the active site, while the other mutations are on opposing sites of BSLA (Figure 3-24A). These mutations increase the resistance not only towards one detergent but towards multiple resistances as shown in Figure 3-24B. Of all variants, G13C is especially interesting since it showed the highest overall increase in resistance.

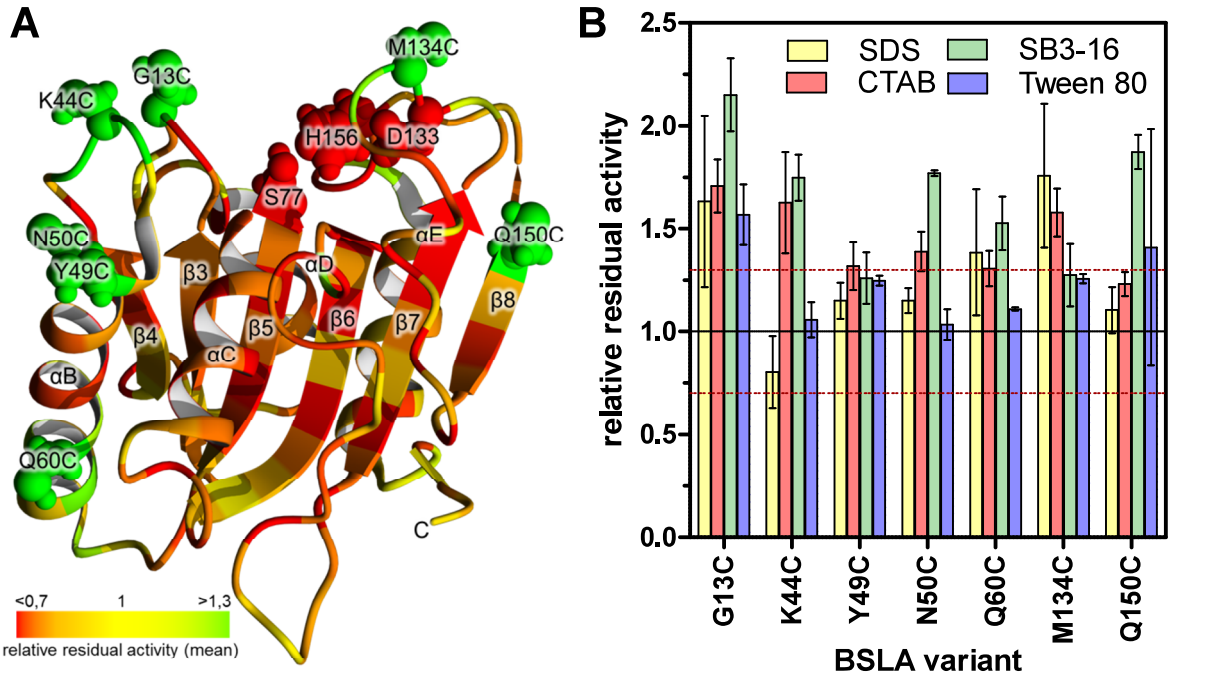


Figure 3-24 BSLA single amino acid substitutions with an increased resistance to SDS, CTAB, SB3-16 and Tween 80.

(A) Representation of cysteine scanning results of the complete sequence of BSLA based on the mean value of relative residual activity per residue for all four detergents to identify the most prominent Cys substitutions with an increased resistance towards multiple detergents. The secondary structure was colored according to the mean effect a substitution with Cys at that position. This was either less resistant (red), neutral (yellow) or more resistant (green). The threshold for this selection was set at 30% or 0.3 fold. The most significant Cys substitutions and residues of the active site are shown with the residue side chain as ball and stick representation. The side chain of the wild type residue at the most significant position of the single amino acid mutant was exchanged with a Cys side chain using FoldX (Guerois *et al.*, 2002). Yasara was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004).
(B) Relative residual activity of seven most promising variants with a cysteine substitution relative to the residual activity of the wild type BSLA. Results are represented as grouped column graph for each variant as a mean value of the three concentrations which were used for each detergent. The two dotted lines in the background represent the 3σ interval of the wild type in CTAB and SDS, any variant outside of this area is considered as either more resistant (above line) or less resistant (lower line).

An SDS-PAGE of the culture supernatant with and without a reducing agent (β-Mercaptoethanol) was used as a first experimental indication for the formation of a BSLA dimer. The proteins were transferred to a PVDF-membrane and BSLA was immunologically detected by a specific anti-BSLA rabbit antibody (Figure 3-25).

Detergents, especially those based on polyethers, are known to release peroxides during storage (Jaeger *et al.*, 1994; Lever, 1977; Lunkenheimer and Czichocki, 1993). There was no detectable amount of peroxide (see 2.9.10) in the stock solutions or any of the dilutions, which were used for the screening. It is possible that the peroxide concentration in the samples was too low to be detected or the formation was promoted only in the presence of BSLA. From the current results it was concluded that the dimer formation was most likely driven by the native process involving the oxidoreductase dsbA in the periplasm of *E. coli* (Bardwell *et al.*, 1991; Martin *et al.*, 1993; Woycechowsky and Raines, 2000).

The immunological detection shows that although only one amino acid was changed and all samples were cultivated and processed in parallel the variants release different amounts of BSLA into the supernatant as seen by the varying intensity of the detected signal (Figure 3-25A+B). Except Y49C all variants release several times more BSLA than the wild type control. The results confirm the hypothesis of at least a partial dimer formation since the monomer form remains present in all samples. The results show also that two different forms of the monomer are present while there is only one species of the dimer (Figure 3-25A). These two forms were shown to be the result of a release of BSLA still fused to the signal sequence PelB as identified by MALDI-TOF (Röllen, 2012). In at least two variants (G13C and K44C) the amount of BSLA (+PelB) seems to be higher than the amount of the mature BSLA monomer, which was processed by the signal peptidase I in the periplasm of *E. coli* (Dalbey and Von Heijne, 1992; Tuteja, 2005). This result further suggest the formation of the dimer in the periplasm of *E. coli* since only this form of the monomer was actually secreted into the periplasm and available to dsbA. A second immunological detection of samples pretreated with β-Mercaptoethanol completely reduced the dimer to a monomeric form (Figure 3-25B). A native PAGE was inconclusive and resulted in a broad smear of protein with no clear monomer or dimer band of BSLA (data not shown).

A zymogram gel with 4-Methylumbelliferyl butyrate indicated activity for the dimer form of G13C and M134C (Figure 3-25C), along with a small activity of all monomers. Activity is

only possible if the enzymes were not completely denatured or able to refold into an active conformation. The monomer bands of the active variants Figure 3 25A suggest a higher concentration of the monomer than the dimer. Interestingly the active band in Figure 3-25C suggests a higher activity of the dimer even under denaturing conditions, which confirms the higher resistance of G13C and M134C towards the effects of SDS (Figure 3-24B).

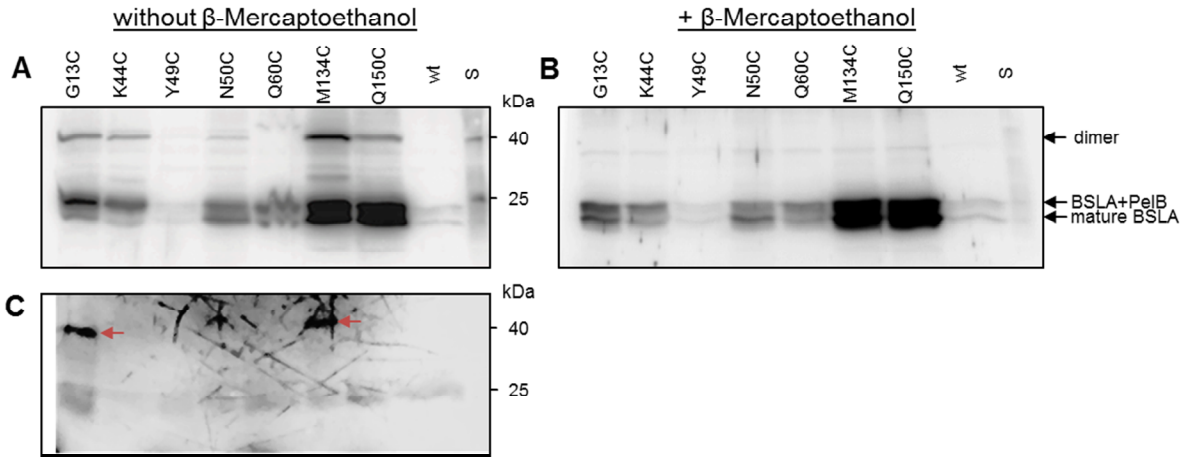


Figure 3-25 Western blot and zymogram of BSLA in the culture supernatant of variants with Cys substitutions.

(A) Western blot of supernatants treated without β-mercaptoethanol, **(B) compared to the same samples treated with β-mercaptoethanol** prior to the SDS-PAGE , using an antibody against BSLA (19.2 kDa), 22 µl supernatant was applied to a 12% SDS-PAGE and transferred to a PVDF membrane blocked with 3% BSA, S= Overlay of the prestained molecular weight standard.
(C) UV light image after 5 min incubation in 5 mM 4-methylumbelliferyl butyrate to the SDS-PAGE of the samples shown in (A), red arrows indicate active bands in G13C and M134C.
BSLA+PelB = BSLA fused to the signal sequence PelB, mature BSLA = BSLA without a signal sequence, wt = wild type, S = molecular weight standard, by overlaying a white light picture of the same blot, only the prestained bands are visible.

The introduction of cysteine is the most dramatic change that can be induced by a single amino acid substitution since this potentially alters the oligomerization behavior and the protein-protein contacts. This would also explain why those variants were able to be so dramatically increased in resistance compared to other improvements which were due to smaller alterations of other single amino acid exchange which added new electrostatic or hydrophobic interactions.

As introduced, unlike most lipases, BSLA has no active site covering lid structure. The surface of BSLA, and lipases in general, is adapted to bind very hydrophobic substrates (Petersen *et al.*, 2001). For this, many lipases contain a specialized lid covering the active site. This lid is thought to rearrange into an open conformation at oil/water interphases (Brzozowski *et al.*, 1991). The formation of a dimer with a disulfide-bridge very close to the active site could result in the formation of an artificial lid with two

opposing active sites. To further explore the possible conformation of those variants and orientation of the active sites to each other, protein-protein docking using HADDOCK on the WeNMR grid (de Vries *et al.*, 2010) was used to model the likely dimer conformation of each variant. The docking was constrained by setting the opposing Cys residues as interface residues. The energetically most favorable model of each variant is shown in Figure 3-26. All of the top ranked conformations were combined in clusters; more detailed results for all clusters which were predicted by HADDOCK are listed in Table 3-5.

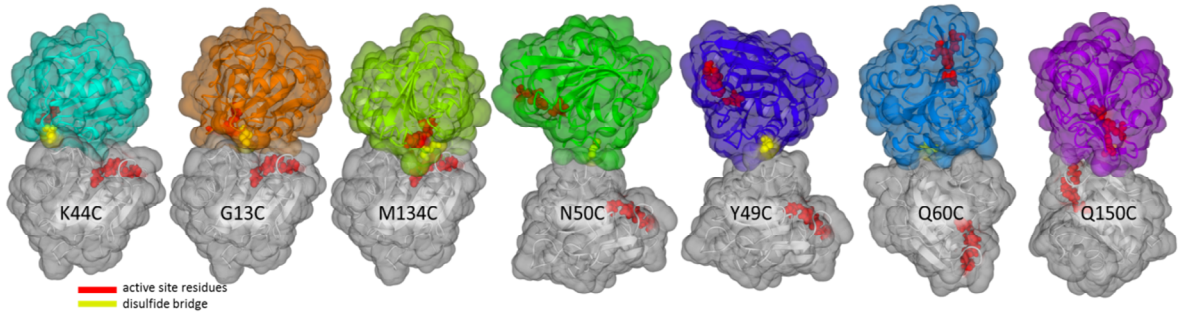


Figure 3-26 Surface representation showing the possible contact between BSLA molecules.

The most likely conformation of the artificial dimer with a disulfide bridge (yellow). The variants are ordered according to the orientation of the second molecule (colored in grey), which was only rotated clockwise so that the same side was visible to allow a better understanding of the location of the contact surfaces. The image shows the secondary structure with a transparent surface of the protein. The active site residues S77, D133 and H156 are colored red and the disulfide bridge is colored yellow. The first three variants contain a substitution close to the active site, the following variants contain substitution at other surfaces of BSLA. YASARA was used for visualization (Krieger *et al.*, 2004).

Each cluster represents a different possible orientation essentially turning the axis between the two BSLA molecules around the contact of the Cys-residues. Some variants only allow a limited number of orientations, mostly two (G13C, K44C, Y49C, N50C) and for Q150C only one. From the remaining two, Q60C was predicted with the most possible orientations, six in total. All of the clustered orientations of the Q60C dimer are mostly based on charged interactions (up to 85 %, mean 55 % ± 17 %) that seem to allow a larger amount of freedom in the orientation of both monomers while still resulting in a possible interface. Nevertheless, this does not change the general orientation, which in three cases (Figure 3-26, K44C, G13C, and M134C) shows a possible contact between the two active sites. In the model of M134C the active sites of the two molecules are directly above each other, and on opposing sites of the dimer in G13C and K44C. The other four variants show contacts of other protein surfaces.

The solvent accessible surface area (Lee and Richards, 1971) has been shown to be directly related to the free energy (Chothia, 1974; Hermann, 1972; Reynolds *et al.*,

1974), which becomes also clear when considering that less water is required in a highly ordered state around the non-polar side chains. This effect is probably the driving force of the increased stability of both molecules in the dimer conformation. The buried surface area (BSA) of the dimer interface indicates that up to 14 % of the available surface area (ASA) of each monomer is covered by the second BSLA molecule. Especially Y49C and M134C show a very large interface area, while N50C shows the smallest area among the predicted dimer interfaces of the eight variants.

Table 3-5 Analysis of the possible dimer interfaces generated by protein-protein docking.

variant	model#[a]	BSA [b] (Å²)	% ASA [c]	residues[d] (Mean)	contacts [e] (Mean)	aliphatic[f] (% BSA)	aromatic[g] (% BSA)	neutral [h] (% BSA)	charged [i] (% BSA)
G13C	1	893	11 %	13	23	58 %	16 %	12 %	14 %
	2	791	10 %	7	12	47 %	12 %	25 %	16 %
K44C	1	814	10 %	9	16	60 %	29 %	8 %	3 %
	2	807	10 %	8	13	72 %	26 %	0 %	3 %
Y49C	1	786	10 %	5	8	22 %	22 %	37 %	20 %
	2	1108	14 %	14	27	34 %	14 %	39 %	13 %
N50C	1	673	9 %	5	10	0 %	40 %	47 %	14 %
	2	615	8 %	4	8	0 %	49 %	46 %	5 %
Q60C	1	837	11 %	8	10	21 %	6 %	15 %	58 %
	2	878	11 %	7	11	16 %	3 %	26 %	56 %
	3	847	11 %	8	13	12 %	28 %	25 %	35 %
	4	937	12 %	10	14	24 %	0 %	29 %	47 %
	5	714	9 %	4	6	5 %	0 %	10 %	85 %
	6	782	10 %	6	9	12 %	11 %	30 %	47 %
M134C	1	1099	14 %	19	39	59 %	11 %	19 %	11 %
	2	941	12 %	13	22	35 %	13 %	43 %	9 %
	3	862	11 %	10	18	55 %	20 %	12 %	12 %
	4	904	12 %	11	15	53 %	4 %	34 %	9 %
Q150C	1	840	11 %	10	15	13 %	16 %	56 %	16 %

[a] predicted conformations by HADDOCK with a constraint on the contact of the two opposing Cys residues to allow disulfide formation.
[b] buried surface area, the total surface area which is occluded from each of the monomers from the solvent.
[c] the percentage of available surface area relative to the still solvent exposed surface area, to measure what percentage of the protein is not solvent accessible.
[d] the number of residues involved in contacts between the two monomers.
[e] the number of contacts between the residues in d.
[f-i] composition of the interface by chemical property of the amino acids.

The effect described above is especially strong for surfaces composed of many aliphatic amino acids such as the active site of BSLA. This is relevant for G13C, K44C and M134C, which show an interface with a high content of aliphatic amino acids. This includes both of the variants (G13C, M134C) which were shown to remain active even under the semi-denaturing conditions of the zymogram (Figure 3-25C). The composition of the other interfaces is more diverse and shows no tendency towards a certain type of amino acid (Table 3-5).

After aligning all bacterial lipases (332 sequences, Pfam database, accessed 10.02.2014) none of the Cys substitutions were found in naturally occurring sequences of related enzymes. This could indicate a very artificial destabilizing effect due to the detergents or due to the high protein concentration *in vitro* experiments. *Bacillus subtilis* secretes BSLA into the extracellular media where it hydrolyses substrate molecules to enable uptake by the cell. In its natural role, BSLA is usually only present in comparably low concentrations (Dartois *et al.*, 1992). However, lab experiments dramatically increase these concentrations by overexpression. In these concentrations, the hydrophobic surface of BSLA, required for efficient substrate binding, also promotes the formation of insoluble aggregates. The significance of the aggregation behavior for protein stabilization was confirmed by the substitutions identified in the group of Rao *et al.* during their experiments towards increased thermo stability of BSLA (Kamal *et al.*, 2012). Their results demonstrated that a change in the aggregation behavior can greatly increase the kinetic stability of BSLA.
This leads to a number of possible resistance increasing effects of the dimerization. First, the dimerization could be shielding the active site against large detergent micelles while remaining accessible to single substrate molecules.
Second, the cysteine residues could also change the aggregation behavior by blocking an otherwise very aggregation prone region at the surface and thereby increase the solubility of BSLA during the experiment. This might also be an additional role of the lid structure found in many lipases, since the active site is very hydrophobic.
The third possible explanation would be the formation of more organized aggregate of BLSA dimers. Hereby the Cys substitutions influence the aggregation behavior of BSLA and favor aggregates that retain an accessible active site, resistant to the effects of the detergent opposed to the inactive aggregates of the wild type.

In summary the screening results of the Cys substitutions revealed possible sites on the protein which are most favorable for protein-protein contacts of the otherwise usually

monomeric but aggregation prone BSLA. The location of these sites suggests the importance to protect the active site from interacting with the detergent molecules. It also revealed a very likely mode of inactivation in detergent solutions. Especially the active site is composed of many aliphatic residues and it is possible that detergent micelles would be able to bind to this aliphatic area and inhibit protein activity. In addition, the previous results indicated an accumulation of beneficial substitutions within the αB as a potential weak spot in presence of detergents. The substitutions Y49C, N50C and Q60C are also located in this alpha helix, which would protect this site by the protein-protein contact.

Interestingly, three out of the seven positions discussed in this chapter have already been reported to also affect the enantioselectivity of BSLA against *cis*-1,4-Diacetoxycyclopentene (Eggert, 2001). In one case this was also caused by a Cys substitution (Y49C). In the other two, the identical position was substituted but exchanged with a different amino acid (Q60L, N50S). All of these variants showed an increase in the *ee*-value from 38 % (wild type) to 54 - 56 %. As an outlook and since the dimer formation might further influence the selectivity, as has been proposed for lid structures (Puls, 2007), it would be of interest to test all of the variants for changes in selectivity in a future project.

The more detailed analysis of the screening results demonstrates the possibility of increasing the resistance of a protein in presence of detergents by introducing an artificial protein-protein interaction through a disulfide bridge between to BSLA molecules. This interaction can bury up to 14% of the available surface area, often constituting a high amount of hydrophobic amino acid contacts. A complete scanning along the sequence of BSLA showed that these substitutions are all surface exposed and accumulate at the rim of the active site and the αB helix – the latter has already been identified as a potential weak spot of the protein.

3.4 Thermal resistance screening of all possible single site amino acid exchanges in BSLA

Many industrial processes have to be performed at high temperatures, with the benefit of higher reaction rates, process sterility, and increased substrate solubility (Klibanov, 1983). This means that enzymes are not only exposed to the effects of co-solvents, such as detergents, but also have to be resistant to elevated temperatures (Bornscheuer *et al.*, 2002; Luetz *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2003). Increased temperature stability is differentiated between either an increase in kinetic stability or an increased thermodynamic stability. Kinetic stability refers to a better recovery over many process cycles, due to protein refolding instead of aggregation. Thermodynamic stability is the result of an increase in melting temperature, before the enzyme loses the active conformation and denatures. Both types have been shown for BSLA as referred to in 1.2.3 and Table 1-1 (Augustyniak *et al.*, 2012; Kamal *et al.*, 2011). The aim of the following experiments was an assessment of variants with a change in thermodynamic stability using the full BSLA library of single amino acid substitutions (library generation described in 3.1.2).

3.4.1 Comparison of methods to analyze the temperature induced inactivation of BSLA

In preparation of the screening, the melting temperature of the wild type BSLA was determined based on residual activity measurements and a combination of biophysical methods. The residual activity of BSLA after 30 min incubation at various temperatures between 40 °C and 60 °C is shown in Figure 3-27A. In agreement with previously reported results (Eggert, 2001), BSLA retains full activity up to a temperature of 45 °C. Temperatures above 45 °C led to a loss of residual activity, and complete inactivation after 30 min incubation above temperatures of 57 °C. According to the residual activity, the melting temperature for a 30 min incubation is reached at 49.2 °C (± 0.3 °C).
These results are supported by results from a DSC measurement as shown in Figure 3-27B (see methods 2.9.6). The results show a start of the transition above 45 °C, the maximum release of excess heat was observed at 50.66 °C (± 0.12 °C). After the measurement the sample was cooled down to room temperature and the measurement was repeated but showed no transition (data not shown), indicating no refolding of the

enzyme under these conditions. Refolding was also not observed during repeated CD-measurements as shown in Figure 3-27C. The melting temperature according to the change in ellipticity at 205 nm was 48.58 °C (± 0.08 °C), a second scan did not show another unfolding. In addition a scan of the full spectrum also shows that the sample has lost most of the secondary structural elements (Figure 3-27C, inserted frame).

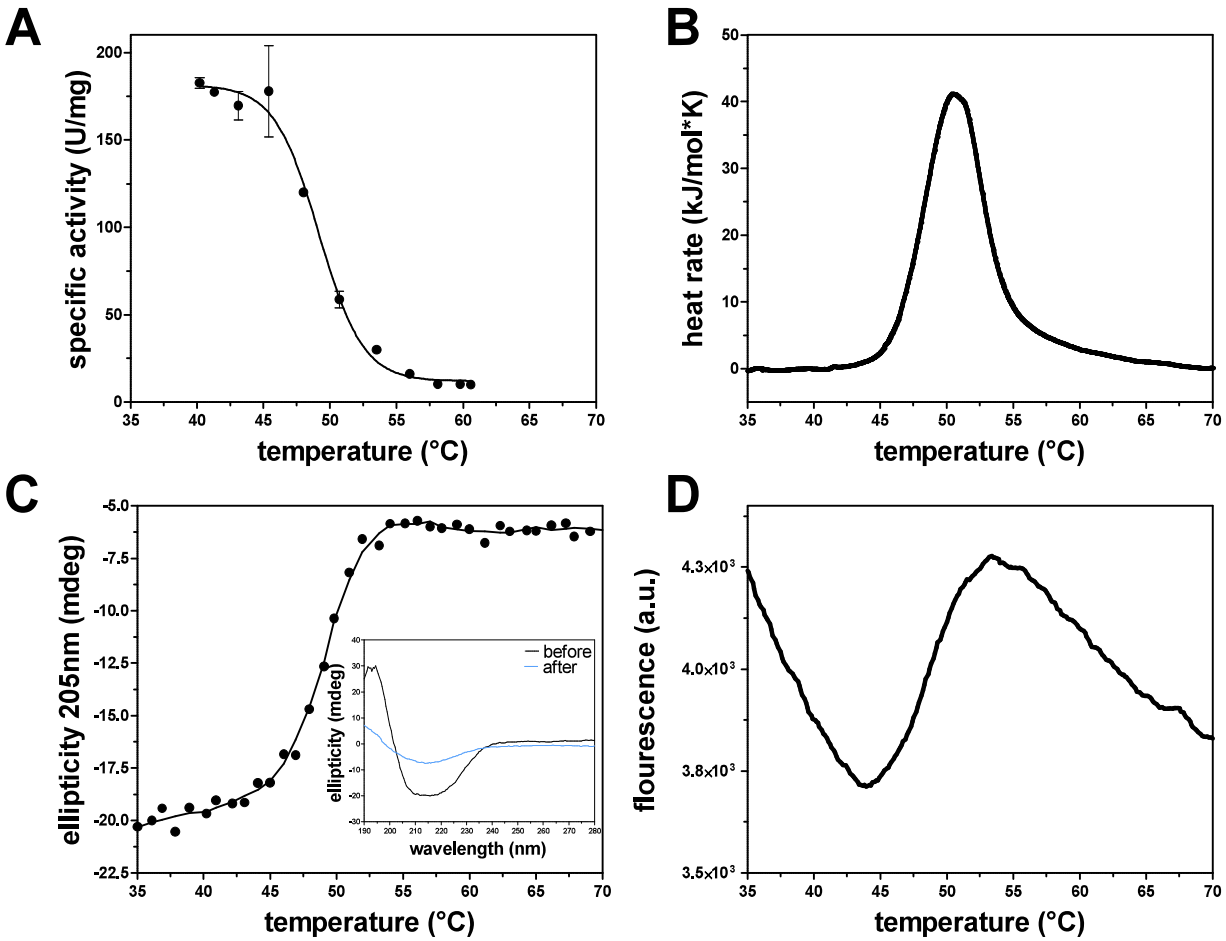


Figure 3-27 Determination of BSLA thermostability by biophysical methods.

(A) Specific activity against *p*NPP after 30 min incubation at the indicated temperatures (measurement in triplicates with 0.03 mg*ml^{-1} purified BSLA$_{his}$). **(B) Change in heat rate** using a microcalorimeter against a capillary filled with buffer, corrected for the heat rate of water, during an 0.5 °C*min^{-1} increase of temperature. **(C) Change in ellipticity at 205 nm** during heating of the sample with 0.5 °C*min^{-1}. The inserted frame shows the full CD-spectrum of the sample before and after heat denaturation, measured after cooling down to room temperature. **(D) Results of differential scanning fluorimetry** in a 384 well MTP format with culture supernatant of the wild type BSLA expressing clone and Sypro orange® (2X) with an temperature increase of 1 °C*min^{-1}.

From these results, 50 °C was chosen as suitable incubation temperature for the screening procedure; at this point, the wild type retains a residual activity that allows a comparison to both more resistant, as well as less resistant variants.

Another potentially high-throughput measurement method for screening was tested using the fluorescent dye Sypro orange® (Sigma Aldrich) for differential scanning fluorimetry. In principle the dye binds to hydrophobic patches, including the otherwise buried hydrophobic chains of the protein, which are exposed upon denaturation of the protein. The method relies on a highly sensitive measurement of fluorescence (see methods 2.9.8 for more details). This measurement could also determine the stability change of inactive variants, since it is not dependent on a residual activity. The culture supernatant of *E. coli* BL21(DE3) with the construct pET22lipAPelB from a MTP expression in Wilms-MOPS minimal media showed an increased fluorescence of the fluorescent dye Sypro orange® in good agreement (T_M = 48.65 °C ± 0.09 °C) to the results of the other methods with purified $BSLA_{His}$ (Figure 3-27D). Unfortunately, experiments with the library plates showed that the fluorescence intensity varied significantly between the samples, most likely caused by the difference of the released protein. This affected the rise in signal upon binding and the steepness of the curve, so that a reliable calculation of the shifting temperature was not possible.

In some measurements, the shape of the fluorescence curve described several shifts, both at temperatures below and above 50 °C, which also varied between replicates of the same variant. The hydrophobic surface of BSLA was already shown to bind bis-ANS, a very similar dye, (Kamal *et al.*, 2013) so that these shifts are very likely the result of a solubilization of BSLA aggregates or BSLA molecules bound to the surface of the sample cavity. As the aggregates dissolve, hydrophobic surfaces are exposed and bind the dye.

An incubation temperature of 50°C was chosen for the screening of all variants towards thermal resistance based on biophysical results of the wild type. The measurements will be based on the residual activity after 30 min at which the wild type loses about 70 % of activity due to unfolding.

3.4.2 Exploring the full protein thermostability landscape

Since the aim of the screening was a measurement of thermodynamic stability the incubation and activity measurement were both performed at 50 °C. This immediate measurement avoids a potential bias due to differences in the protein refolding that could occur during cooling of the sample. The change of activity after 30 min and after 15 min was normalized against the activity after 5 min incubation. This way, differences in the specific activity and amount of protein can be neglected. The relative residual activity of each variant was then subtracted from the residual activity of the wild type control. The final result is a change in the residual activity based on the activity after 30 min incubation as shown in Figure 3-28 in a heat map representation of all variants (see appendix for results after 15 min incubation for each variant).
The standard deviation in the residual activity of the 2,997 wild type clones contained across the screening plates was used to identify significantly changed variants. The standard deviation of the thermal resistance assay was 63 % ± 16.7 %. With an arbitrary set threshold of 2σ for the thermal resistance experiments (see validation of the results), a total number of 88 substitutions were identified able to increase the thermal resistance. 576 substitutions led to a decrease in the resistance. The location of these substitutions and possible implications will be shown in more detailed in the following.

Variants with an increased thermal resistance were not limited to positions with surface accessibility but also measured within the protein and inside of β-sheet regions as seen at position 101 (β6), and positions 123-126 (β7). This demonstrates a different nature of the rationales behind these substitutions compared to the screening towards detergent resistance in which the interactions were limited to the protein surface (chapter 3.3). The detergent destabilization was a result of interactions between surface residues and the solvent molecules, while thermal denaturation affects the whole protein and thus was not limited to the solvent-protein interface.
The highest number of consecutive residues with multiple variants able to individually increase thermal resistance was observed at the end of αA (position 21-23). This region is directly adjacent to a region with the highest number of variants significantly reduced in thermal resistance (positions 31-33) at the beginning of β4. Compared to the detergent screening, both of these regions were not particularly favorable or unfavorable for substitutions. Without further analysis, the rationales are not directly clear – in the wild type both regions contain hydrophobic residues followed by a positively charged

residue[7]. It is likely that the region 31-33 makes structurally important contacts which are particularly favorable for thermal resistance, while 21-23 does not. The crystal structure (PDB:1I6W) shows that Trp31 is stacked underneath to His3, which has been shown to be a strongly stabilized amino acid pair on the surface of many proteins (Gervasio *et al.*, 2001). Accordingly, the crystal structure shows that Arg33 forms an H-bond to Ser24. From the allowed substitutions at this positions it can be concluded that only large side chains with a terminal amino group are able to preserve this contact (R33K and R33Q, see Figure 3-28), while all other lead to a destabilization. The region from 21-23 does not include such specific interactions, but is rather involved in general hydrophobic and van-

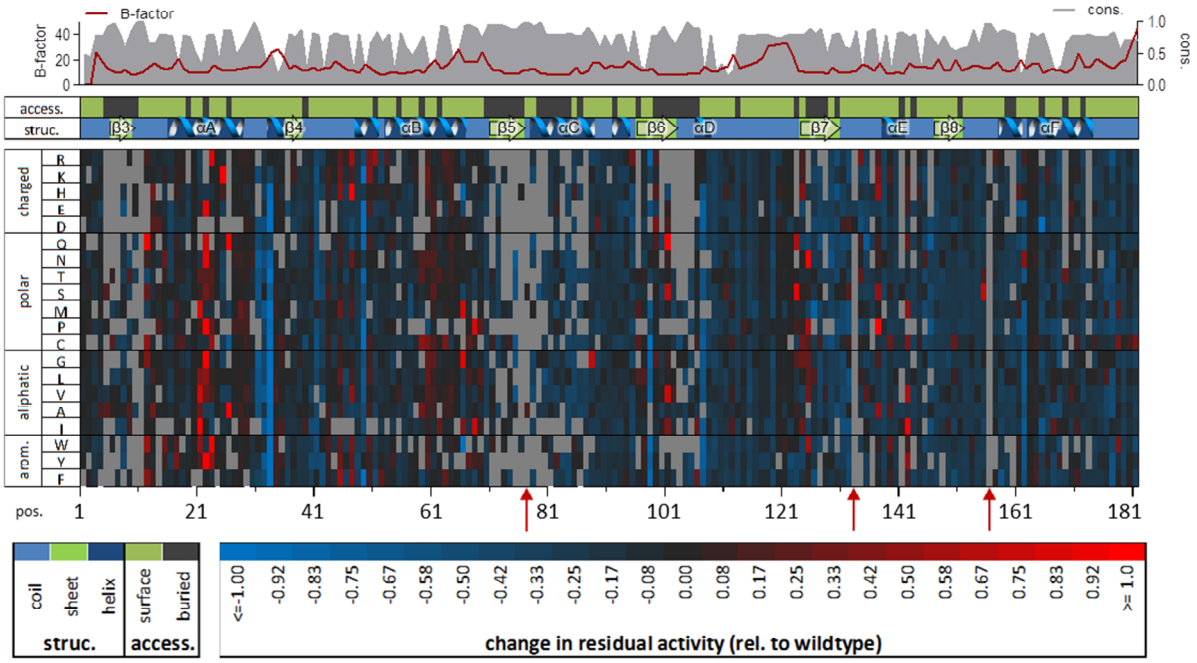


Figure 3-28 Heat map representation of change in residual activity after 30 min incubation.

The amino acid positions beginning at the N-terminus are plotted along the x-axis (red arrow = active site residues). The amino acid in the variant is given in the y-axis. Blue coloration indicates a decrease, black no change and red coloration indicates an increase in the resistance compared to the wild type. Grey colored variants could not be measured due to very low or no activity. The extra rows show the secondary structure (struc.: green = β-sheet, dark blue = helices, light blue = turn or coil), surface accessibility (access.: dark grey = buried, green = surface exposed), conservation (see experimental section), B-factor (as provided in the PDB 1I6W) of the wild type residue at that position. The measured activities of all variants after 5 min, 15 min and 30 min incubation are provided in the appendix.

der-Waals contacts. The substitution of these larger side chains with smaller amino acids most likely optimizes the packing, which supports the prediction of the thermostabilzing effect of the substitution K23A by (Yun *et al.*, 2013).

[7] G21-I22-K23* and W31-S32-R33*

Thermophilic enzymes show an increased number of hydrophobic residues inside of the protein while the protein surface contains more charged residues compared to mesophilic enzymes (Kumar and Nussinov, 2001). The overall number of substitutions that led to an increased thermal resistance (Figure 3-29A) shows no clear disposition toward one certain type of chemical property, apart from Cys. Beneficial Cys substitutions were again observed more often than other amino acid substitutions, even though they increased the resistance only by a maximum of 40 % (Figure 3-28). The introduction of Cys in form of a disulfide bond has already been shown to be favorable to increase protein thermostability (Amaki *et al.*, 1994; Mansfeld *et al.*, 1997; Trivedi *et al.*, 2009).

While there is no clear tendency towards a certain type of substitution, the frequencies among the charged amino acids show that negatively charged amino acids were a very rare substitution among variants with an increased resistance (Figure 3-29A). Even more so, the substitution with Thr was not observed in any of the variants with an increased thermal tolerance.

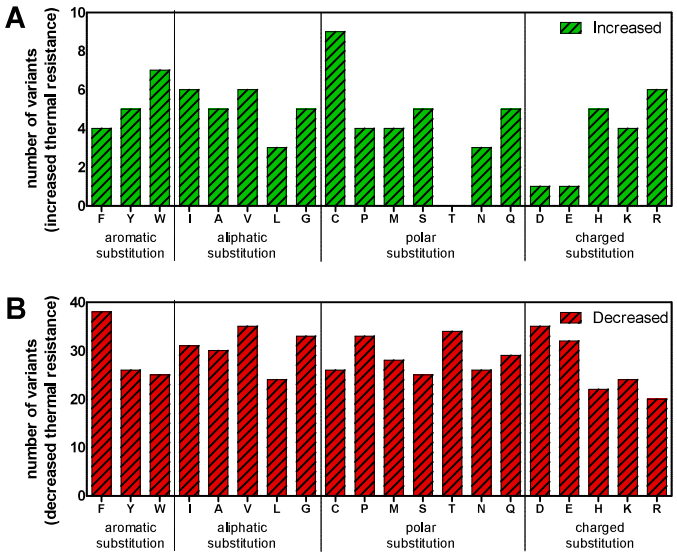


Figure 3-29 Number of variants with a significant change of residual activity after 30 min incubation at 50 °C.

(A) Absolute number of variants with an increase of at least 33 % (>wt+2σ) compared to the wild type residual activity. **(B) Absolute number of variants with a decrease of at least 33 %** (<wt-2σ) compared to the residual activity of the wild type, residual activities were normalized relative to the activity of each sample after 5 min incubation, activity was measured with *p*NPP at 50 °C monitored by the increase of absorption at 410 nm over a period of 2 min.

The above obervations were also confirmed by the frequency of substitutions in variants with a reduced thermal resistance. Here, the negatively charged substitutions show a higher frequency over the frequency of each of the positively charged amino acids. In general the positively charged amino acids show the lowest frequency while Phe was the most common substitution in variants with a reduced thermal resistance (Figure 3-29B).

The frequencies allow a comparison to common assumptions concerning thermostability. A generally accepted hypothesis based on sequence comparison suggests that increased rigidity increases the stability of enzymes at high temperatures, in particular through the introduction of Pro and removal of Gly residues (Matthews *et al.*, 1987; Muslin *et al.*, 2002; Prajapati *et al.*, 2007; Sriprapundh *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 1987). The frequency of Pro and Gly substitutions in Figure 3-29 shows no prevalence towards either substitution among the variants with an increased resistance. Besides, not only Gly but also Pro were found with a slightly higher than average frequency among variants with a decreased resistance (Figure 3-29B). This would indicate that the BSLA sequence is probably not very tolerant to Pro substitutions, since Pro was also shown to cause the highest number of inactive variants in an earlier chapter of this thesis (see Figure 3-7).

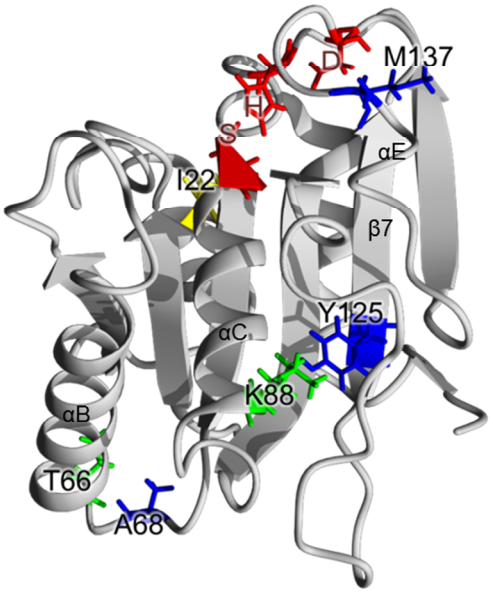


Figure 3-30 Location of Pro and Gly substitutions in a 3D structure representation

All Pro and Gly substitutions with an increase of resistance larger than 30% are visualized with their wild type residue side chain. blue = Pro substitution beneficial, green = Gly substitution beneficial, yellow = both substitutions beneficial, red = active site residues Ser77, Asp133, and His156.

Both Pro and Gly are considered as special amino acids (Lodish *et al.*, 2000), and from the frequency it seems that these cannot be introduced just anywhere in the protein. The screening results have identified only four variants with a Pro substitution with an increased thermal tolerance (I22P, A68P, Y125P and M137P), while also three substitutions with Gly led to an increase in resistance (I22G, T66G, K88G). The location

of these substitutions is shown in Figure 3-30 with the respective wild type residue side chain. The two substitutions A68P (also reported to be more org. solvent stable (Yedavalli and Rao, 2013) and M137P occur inside of loops in close proximity of the beginning of the αB- and αE-helices. These two substitutions probably indeed reduce the flexibility of these loops which then causes an increase in thermal resistance.
The third Pro substitution Y125P inside of β4 shows a smaller impact on the gain of resistance (+61 %) than the other two (A68P: +84 %; M137P: +99 %), and most likely leads to a better packing of the protein hydrophobic core.
The two Gly substitutions T66G and K88G replace an equivalent residue at the beginning of αB and αC. Gly (and Pro) are known as “helix breaker” (O’Neil and DeGrado, 1990) so that these substitutions at the beginning of the helix will most likely shorten the two helices. This could also be the reason for the beneficial effect of Pro and Gly in I22P and I22G, since both are able to break the αA. As described before (at the beginning of this chapter on the basis of the heat map in region 21-23) a particularly high number of possible substitutions was identified in this region. This suggests that this helix is particularly vulnerable to denaturation, which confirms the earlier hypothesis that a replacement of the bulky amino acids in the wild type enhances the packing of this region.

Interestingly, one of the Pro substitutions, namely M137P, has already been published as very thermostabilizing, with a published increase of the melting temperature by 6 °C as determined by CD-spectroscopy (Ahmad *et al.*, 2009). It was proposed that this stabilization was caused by an increased constraint on the protein backbone, reducing the available conformational space of the polypeptide that then avoids a certain aggregation prone intermediate during thermal denaturation.

The screening of the full library for thermal tolerance at 50 °C identified 88 variants with an increased resistance and 576 variants with a decreased resistance. The location of the substitutions was not limited to a certain part of the protein.
Cys substitutions were the most frequent among variants with a higher thermal resistance. Thr and negative charged substitutions were less favorable and among the most frequent resistance decreasing amino acid exchanges.
The results suggest that thermal resistance is dependent on very specific intramolecular interactions, with strong support for the importance of the general packing and flexibility of the residues.

3.4.3 Validation of screening results with biophysical properties of selected variants

As mentioned before, thermostability can be differentiated between kinetic and thermodynamic stability. To validate whether the results of the screening correlate with an increase in thermodynamic stability a number of BSLA variants were also characterized by CD-measurements (see methods 2.9.7) as shown for the wild type in Figure 3-27C. The results will be shown in this chapter and compared to the results of the same variants from the screening experiments to analyze the extend of change in residual activity which translates into a change of the melting temperature.

The variants for this comparison were generated by site directed mutagenesis on sites of the protein, which were also selected prior to the completion of the full library screening as part of a cooperation with the group of Prof. Dr. Holger Gohlke (Institute for Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Heinrich Heine University, Duesseldorf, Germany). The selection is based on a prediction (Rathi, 2014). The mutagenesis was performed on the plasmid pET22LipAΔss featuring a $His_{(6)}$-tag, for purification. The variants were purified based on the affinity of His to gel-immobilized Ni^{2+} ions under native conditions (see methods 2.9.5). A sample from each purification is shown on a SDS-PAGE in Figure 3-31.

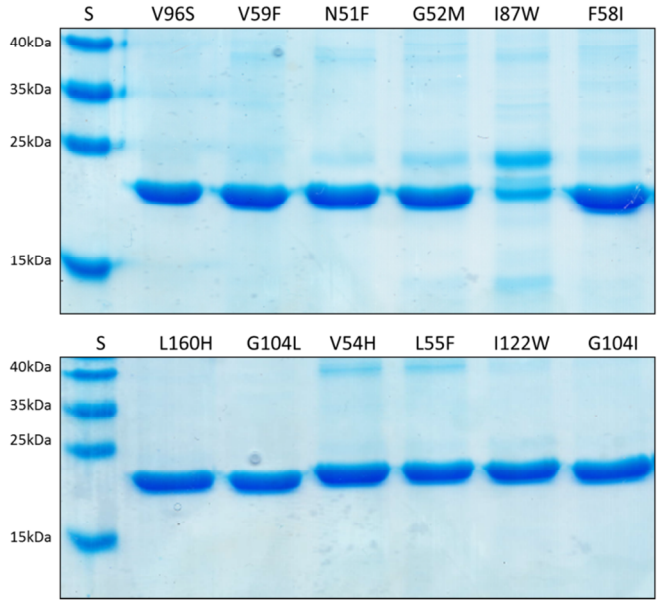
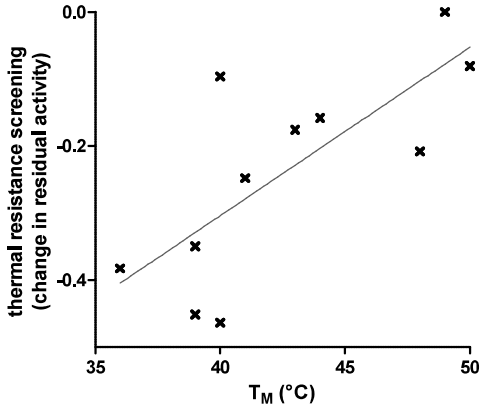


Figure 3-31 SDS-PAGE of IMAC purified $BSLA_{his}$ variants.

All variants were purified by IMAC, a sample of 10 µl with a protein concentration of 0.3 $mg*ml^{-1}$ was analyzed on a 12 % SDS-PAGE to ensure the purity. $BSLA_{his}$ has a molecular weight of 20.1 kDa. All samples, apart from I87W, were found to be >95% pure by densitrometic analysis of the Image (see methods 2.10). S = molecular weight standard. Labeling of the samples indicates the exchanged amino acid in the mature BSLA sequence.

With the exception of I87W, which was also inactive during screening, all variants were purified in sufficient purity for CD-measurements (>95 % pure, by densitrometic analysis see methods 2.10).The measured melting temperatures of each variant are summarized in Figure 3-32 and correlated to the screening results of these variants from the previous chapter. The results show a significant correlation as analyzed using a Pearson-test (confidence interval of 95 %, alpha 0.05, p-value = 0.01) with an Pearson correlation coefficient of 0.74.



	T_M (°C)	resistance
WT	49	0.00
V96S	44	-0.16
I122W	43	-0.18
G104L	39	-0.45
G104I	39	-0.35
V59F	36	-0.38
F58I	48	-0.21
L55F	41	-0.25
V54H	50	-0.08
G52M	40	-0.10
N51F	40	-0.46

Figure 3-32 Correlation of screening results with the melting temperature of selected variants.

The calculated melting temperature from the change of ellipticity at 205 nm was correlated to the relative change of residual activity from the thermal resistance screening (1 = 100 %) compared to the wild type, which was set to '0'. The results from both methods shows a significant correlation as analyzed using a Pearson-test (confidence interval of 95 %, alpha 0.05, p-value = 0.0086) with a Pearson correlation coefficient of 0.74. Correlation was analyzed using GraphPad Prism v5.03.

The conformity of these results is a good indication that variants with a change in residual activity lower than -25% are indeed less thermostable. Based on the standard deviation, none of the variants would have been considered as significantly reduced (σ = 16 %, from 2,997 wild type clones) with a threshold of 3σ (= threshold of ± 48 %). Instead a threshold of 2σ (= change of at least ± 32 %) would have been able to distinguish the variants with a >10 °C reduction in the T_M from wild type-like variants, although this also increases the chance of false positive or negative variant, respectively.

Although the variants were not above the arbitrary threshold that was set for a significant change, these small changes in stability correlate very well to an actual change in stability as measured by CD-spectroscopy. This demonstrates the sensitivity of the assay and strongly suggests a great change in stability among the significantly changed variants of the thermal resistance screening even with a lower threshold. Due to the preselection, only mostly instable variants were selected, a similar analysis of the

thermal resistant variants will provide further interesting results on the stability change in each of the variants.

A number of variants, which were selected beforehand, were characterized by CD-measurements. The results showed that, although none of the variants was among the significantly changed variants that were identified during screening, the change in the residual activity correlated with the melting temperature with an R^2 of 0.74. A change of 2σ (<-0,33) was correlated to a reduction of the melting temperature by >10°C.

3.5 Stability landscapes as a tool for bioinformatics

As described in the previous chapters the complete saturation mutagenesis of BSLA is eminently useful to efficiently assess the full sequence landscape in respect to the impact of each substitution on a variety of properties like activity, detergent resistance, and thermal resistance. In order to facilitate a transfer and future use of these results, the appendix of this thesis contains a comprehensive table with the screening results of each variant. Since this data does not allow a direct access to a visualization on the basis of the 3D structure of BSLA, the data is also accessible as a web program (http://bsla.alexanderfulton.com/). The “BSLA resistance database” allows a user friendly examination of the existing data with several integrated tools that will be described in the following.

All of the experimental results are contained in a database, which can be accessed by the program and visualized by three different tools (Figure 3 36A). The tools are written in Perl and are available using a HTML webpage generated by the content management system WordPress. The data is stored in MySQL tables and JMol is used for visualization of a structural representation, which is controlled using JavaScript commands. All of these resources (see chapter 2.10) are available under the creative commons license for free use for academic purposes.

The first tool, called the 3D-overlay, allows access to the three dimensional structure colored according to the impact of each position (Figure 3-33B). The representation can be modified directly to turn the structure or to zoom in on a certain part of the protein. A right click pop-up menu offers more commands, along with the possibility to download the PDB file so that it can be opened in an external visualization program of choice. A small menu allows different colorations and representations of the structure and side chain atoms (Figure 3-33C). Another checkbox allows the user to toggle the visibility of the active site residue side chain atoms. The user interface allows the selection of each experiment performed in this work (Figure 3 36D), for example the SDS-screening (see chapter 3.3.2), and the corresponding dataset presented as a mean value or a certain amino acid. After this, the program visualizes the generated data by accessing a PDB file in which the experimental results are assigned to each residue of the BSLA. Inactive variants are ignored and treated as unchanged.

The PDB file for the selected dataset is automatically loaded and colored relative to the lowest and highest change in the experiment (Figure 3-33E).

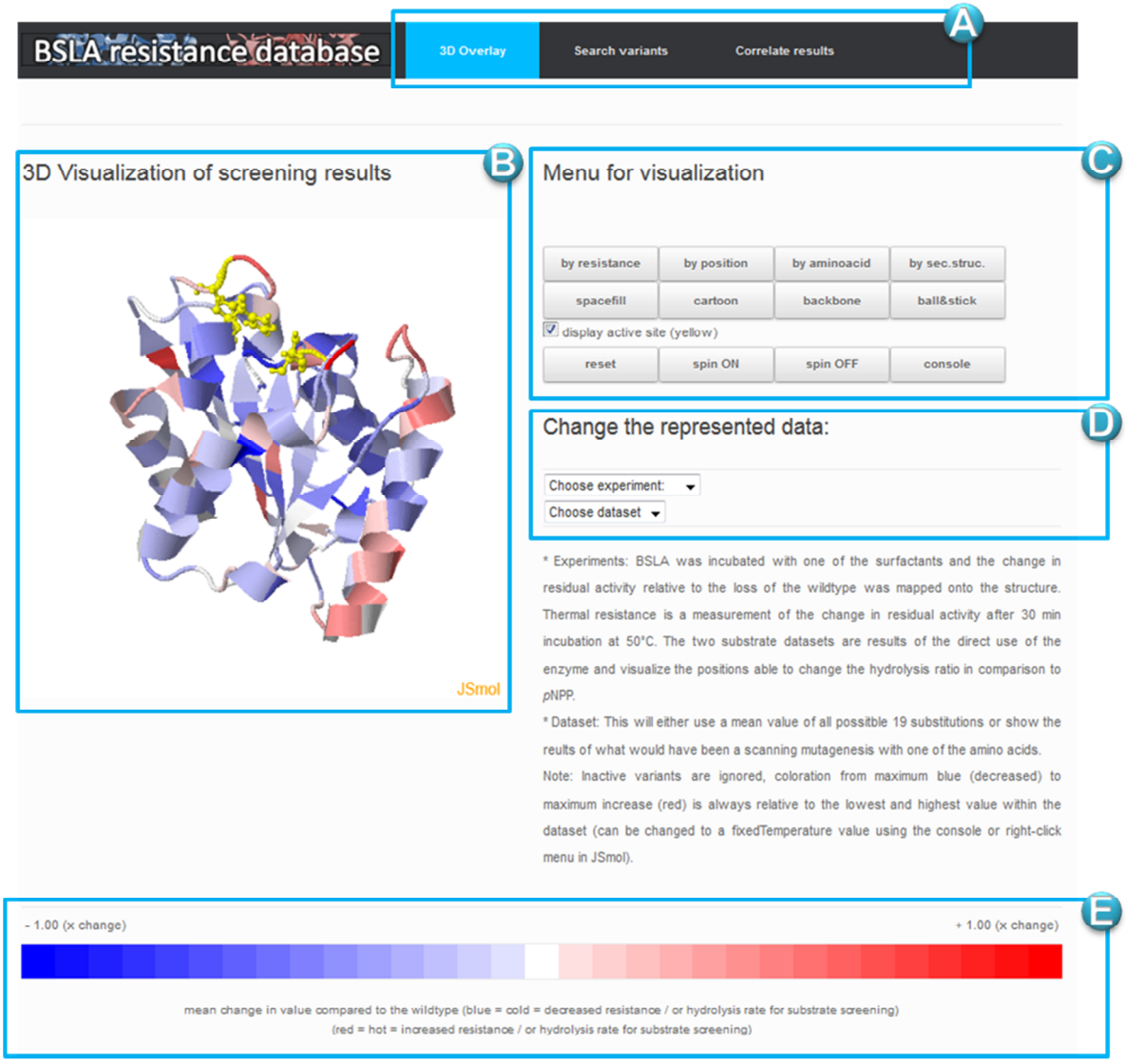


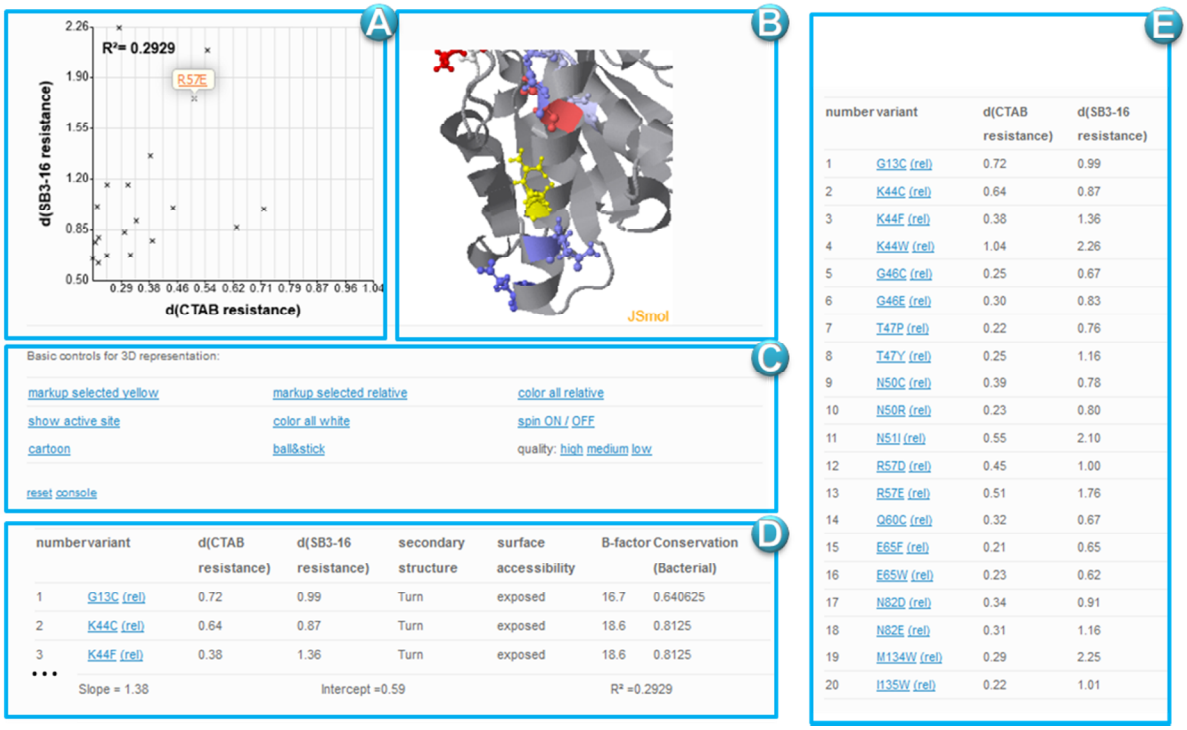
Figure 3-33 3D Overlay of experimental results on the crystal structure of the wild type BSLA.

The menu **(A)** allows switching between the three different tools of the database, which in this case is shown in **(B)** using the structure of the wild type BSLA. The coloration and molecular representation can be changed using a predefined set of commands in the menu **(C),** by right clicking on the structure or displaying the console (button on the lower right). By default the coloration is based on the screening results which can be changed using the dropdown menu, and the visualization shows the mean value for the SDS resistance screening **(D)**. Upon selection, a different structure file with the results of different experiments (e.g. SDS, CTAB, Thermal resistance) and the type of amino acid (e.g. Mean value, Ala-scan, Cys-scan) is loaded. The coloration is always relative to the minimum value (blue), over to the median (white) and the highest value (red) as shown in **(E)**.

Since the structural representation is always relative to the minimum and maximum value within the selected dataset the second tool (Figure 3-33A, “search variants”) allows to search the database for the best variants according to user defined criteria. The results are shown as a list of the actual change of the queried property (e.g. SDS-resistance),

together with some information of the B-factor (if specified) and the conservation of the variants. To allow a quick reference to the position of that variant in the structure of BSLA the variants can also be highlighted in a smaller instance of the same viewer shown before (Figure 3-33B). The variants can be filtered by the amino acid position, by features of the positions (conservation, b-factor, surface accessibility), the amino acids which were replaced, and the introduced amino acids according to a user defined threshold by choosing the minimal difference to the wild type replicates (1σ to 4σ).

The above representation allows an easy identification of variants more resistant towards a certain destabilization, which can be further analyzed using the “Correlate result” tool. This tool allows the same filtering options of the more resistant variants as described above (e.g. conservation, position, amino acids) but with a correlation to a second dataset. The search creates a result page of variants which are significantly increased in both of the selected experiments (Figure 3-34).



number	variant	d(CTAB resistance)	d(SB3-16 resistance)	secondary structure	surface accessibility	B-factor	Conservation (Bacterial)
1	G13C (rel)	0.72	0.99	Turn	exposed	16.7	0.640625
2	K44C (rel)	0.64	0.87	Turn	exposed	18.6	0.8125
3	K44F (rel)	0.38	1.36	Turn	exposed	18.6	0.8125

number	variant	d(CTAB resistance)	d(SB3-16 resistance)
1	G13C (rel)	0.72	0.99
2	K44C (rel)	0.64	0.87
3	K44F (rel)	0.38	1.36
4	K44W (rel)	1.04	2.26
5	G46C (rel)	0.25	0.67
6	G46E (rel)	0.30	0.83
7	T47P (rel)	0.22	0.76
8	T47Y (rel)	0.25	1.16
9	N50C (rel)	0.39	0.78
10	N50R (rel)	0.23	0.80
11	N51I (rel)	0.55	2.10
12	R57D (rel)	0.45	1.00
13	R57E (rel)	0.51	1.76
14	Q60C (rel)	0.32	0.67
15	E65F (rel)	0.21	0.65
16	E65W (rel)	0.23	0.62
17	N82D (rel)	0.34	0.91
18	N82E (rel)	0.31	1.16
19	M134W (rel)	0.29	2.25
20	I135W (rel)	0.22	1.01

Figure 3-34 Example for a result page from a search for variants with correlating resistance to SB3-16 and CTAB.

(A) The results are presented as an automatically generated graph with the change of resistance in both experiments. When hovering over a data point this variant can be selected. **(B)** The selected variant is centered and highlighted in yellow in the 3D representation of the wild type BSLA structure. A small set of commands **(C)** can be selected to change the structure representation. The results are also displayed as a table **(D)** along with some basic information of each substitution and on the correlation (coefficient). **(E)** Shows the full table of the basic search for a correlation between SB3-16 and CTAB resistance.

In addition the results are drawn as a graph against each other to give a graphical impression of the correlation, which is statistically analyzed and displayed as R^2 (Figure 3-34A). As before the variants can be visualized in the structure (Figure 3-34B) by selection from the result table, and also through a tool tip which appears when hovering over one of the data points in the correlation graph.

The example of Figure 3-34 shows a comparison of the significantly more resistant variants against CTAB and SB3-16. In total the result table shows 20 variants that are significantly more resistant than the wild type towards both detergents (Figure 3-34E). The result table contains five substitutions more resistant to CTAB and SB3-16 than the wild type after an exchange against Cys, of which three were already shown to be resistant to all four detergents (see chapter 3.3.6). Interestingly some positions show more than one variant with similar exchanges, with hydrophobic (e.g. K44W, K44F) or negatively charged residues (e.g. R57D/R57E and N82D/N82E). This demonstrates that this database can be used as a useful tool to further analyze the results of the large empirical datasets that have been generated for this thesis. A manual comparison between the datasets would be very laborious, but this search quickly identifies a number of key positions which can be used for further analysis or can be directly applied to guide the mutagenesis of a similar enzyme. Several of the most significant changes listed here could also be combined to test if the variants show a cumulative effect on the path to a highly detergent resistant variant.

Another possibility would be the search for two completely different traits to allow a very efficient engineering towards several properties with a minimal amount of substitutions, for example thermal and detergent resistance. In addition, even more distinct characteristics can be compared within this interface as the database behind this tool can be easily adapted to include further information which can be used for model validation or comparison with future experiments from screening the full library towards other traits.

The complete dataset from the experiments performed in this study was transferred into an online accessible web database. This presents one of the most complete dataset of all possible single site mutations of a protein. The results can be easily visualized and accessed with minimal effort. In addition the datasets of two experiments can be searched and correlated to identify variants with an improvement towards several traits. These results can be used as the basis to guide protein engineering experiments.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK

The results presented in this work show the first comprehensive analysis of the full available mutational landscape with every possible single amino acid substitution in one protein. The *Bacillus subtilis* lipase A (BSLA) was used as a model protein for α-/β-hydrolases to address the influence of each possible amino acid substitution on activity, detergent resistance and thermal resistance.

Full mutagenesis library and outlook to next generation sequencing methods

While the standard site saturation mutagenesis protocols are sufficient for the generation of small libraries, an optimization of the amount of template and endonuclease incubation was necessary to increase the number of mutated sequences from about 56 % to 83 %. This greatly increased yield as well as a statistical approach to efficient library and sample sizes from Dr. Yuval Nov (University of Haifa, Israel) considerably reduced sequencing costs.

Theoretically, costs could be even further reduced by the use of current next generation sequencing methods. The applicability of this method was evaluated with an effective method able to sequence large sequence quantities. The results showed that – in general – 70 % of the sequences were successfully retrieved but at this point in unsufficient quantities to reliable determine the nucleotide exchanges. This can be solved in future by further advances in next generation sequencing technology, which will allow longer read lengths and higher read numbers per sequencing chip for similar subsequent projects like the one presented here at only a fraction of the costs.

As part of this work, a complete library containing every possible single amino acid exchange (3,439 BSLA variants) was generated with the above described optimized procedure.

BSLA fitness landscape and inactivation potential of every amino acid

Overall activity allowed assessing the fitness landscape in respect to the number of tolerated substitutions while retaining an active conformation. This showed that 610 variants (17.7 % of all 3,439 variants) were inactive. The results show that apart from the active site, residue conservation among bacterial lipases was no reliable indication to identify regions with a low tolerance to substitutions, even inside of the conserved GXSXG-motif. Instead, many inactivating substitutions accumulated along the central β-

sheets (β3, β5 and β6), which suggests that structural motifs are better suited to guide a focused mutagenesis. Most inactive variants were the result of an exchange against Pro and all of the charged amino acids (KRHDE); least inactivating were substitutions against Ala, Val, and Leu.

These findings (i) present the first empirical data that confirms the hypothesis that Ala-substitutions are the least disruptive amino acid exchange and also (ii) presents a ranking of all other amino acid substitutions, for example for an alternative scanning method with a different amino acid than Ala.

Hot spots for alteration of the active site accessibility

A comparative screening experiment identified hot spots able to influence the preference against three substrates with different chain length fatty acids: *p*NP-butyrate (C4), *p*NP-palmitate (C16), and *p*NP-stearate (C18). The results agreed to previous assumptions from the comparison of BSLA and BSLB, and identified eight positions at the rim of the active site able to increase the hydrolysis rate of C18 compared to C16. In particular, changes to the salt bridge Y139-R107-D144 had an influence to the accessibility of the active site towards larger substrates. In total 11 positions were able to shift the preference towards the C4 substrate compared to the C16 substrate. Thus, the presented work delivered a promising data set for further studies with smaller, efficient libraries. The identified positions can now be targeted for mutagenesis towards hydrolysis of more challenging substrates. This reduced set of positions could also be targeted for a manageable combinatorial approach since one substitution will most likely not suffice for very challenging substrates.

Surfactant resistance by surface remodeling

The resistance of each variant towards four chemically different detergents (SDS, CTAB, Tween 80 and SB3-16) was tested at three different concentrations in the second series of screening experiments.

Each of the experiments identified a number of up to 2 % (roughly 70 variants) with a positive influence on the residual activity in detergents compared to the wild type. The results show that protein resistance in detergent solutions can be increased by modification of surface residues. The analysis shows that up to 84 % of all increased variants can be identified with a mutagenesis directed towards surface accessible residues. This could also be further focused towards the loops and α-helices. The distribution of the measured residual activities during screening suggest a great number

of additional variants with a small increase that cannot be reliably distinguished due to the experimental error of a MTP assay.

Substitutions located in α-helices had a significantly smaller impact on resistance against CTAB as compared to SDS resistance. This observation confirms the findings of previous studies describing a stabilizing effect of SDS on α-helices (Jirgensons, 1976; Katz *et al.*, 1972). Results obtained from screening with the ionic detergents SDS and CTAB indicated that it is possible to increase the resistance of BSLA by increasing the number of opposite charges on the surface of the protein. Both, anionic SDS and zwitterionic SB3-16 apparently interacted with hydrophobic residues as suggested by an increased resistance of variants that contained additional hydrophobic residues on their surface.

As a general conclusion, surface remodeling may be used to optimize stability of an enzyme in the presence of a detergent. To this end, an optimized mutagenesis strategy would use degenerated codons specifically chosen to introduce aromatic or charged residues, with an opposite charge to the detergent, along with Cys.

Cysteine induced dimerization is the most dramatic effect among single amino acid exchanges

The highest increase in detergent resistance was caused by the introduction of Cys residues to the surface of BSLA. An SDS-PAGE of the supernatants from the most prominent variants suggests the formation of a disulfide bridge between two BSLA molecules. The modelled dimer structures estimate an interaction covering up to 14% of the available surface area, which constitutes of mostly hydrophobic amino acid contacts. Beneficial Cys substitutions accumulated at the rim of the active site and the αB helix – the latter was also found as a potential weak spot during the surfactant resistance screening.

In combination with the previous findings, a liable method to efficiently increase the resistance towards detergents could focus on Cys substitutions at surface accessible residues of similar proteins. This would only require minimal screening effort and could be performed using the same MTP based screening method as described in this thesis. In some variants, the dimer structure resembled a structure very similar to the otherwise very common lid that has been shown to influence substrate specificity. Future projects could further analyze the dimer forms and determine if they also show changes in the regio-, stereo- or enantioselectivity of BSLA.

Thermal resistance

The third set of screening experiments measured changes of each variant in the residual activity after 30 min incubation at 50 °C in comparison to wild type BSLA. This screening identified a total of 88 variants with an increased thermal resistance along with 576 significantly less resistant variants. Selected variants were characterized by CD-spectroscopy, which suggest that a significant change in thermal resistance correlates to a potential change in temperature stability by >10 °C.

In contrast to the surfactant resistance the structural location of substitutions in significantly changed variants was not limited to a certain part of the protein. However, surface located Cys substitutions were the most frequent among variants with a higher thermal resistance. Thr and negative charged substitutions were the most frequent resistance decreasing amino acid exchange. The results suggest that thermal resistance is dependent on very specific intramolecular interactions, with strong indications that confirm the hypothesis that the general packing of the enzyme is of great importance.

Future directions

All of the findings by the experiments that were performed during this project could also be used to specifically target the corresponding residues in a homologous α-/β-hydrolase. However, it should be mentioned that the same amino acid exchange can exert quite different effects as has been demonstrated for different subtilisins (von der Osten *et al.*, 1993).

The whole dataset could be useful for computational algorithms that usually divide the data into two sets that are used for training and testing of the model. Such a strategy should then be applicable also for other homologous α-/β-hydrolases.

The complete dataset from the experiments performed in this study was transferred into an online accessible database. This presents the most consistent dataset of all possible single site mutations for an α-/β-hydrolase. The results can be easily visualized and accessed with minimal effort. In addition the datasets of two experiments can be searched and correlated to identify variants with an improvement towards several traits. These results can be used as the basis to guide protein engineering experiments.

The complete BSLA library itself can be used to further characterize each variant in respect to additional properties.

Two subsequent studies are already using the library for (I) comprehensive studies of *in vivo* translocation efficiency of BSLA in *Bacillus subtilis* (Skoczinski, 2012) and (II) an analysis of the heterogeneity in screening cultures on the basis of changes in the respiration behavior (Rahmen *et al.*, 2014, submitted).

5. REFERENCES

Acharya P, Rajakumara E, Sankaranarayanan R, Rao NM. 2004. Structural basis of selection and thermostability of laboratory evolved *Bacillus subtilis* lipase. *J. Mol. Biol.* **341**:1271–81.

Adlercreutz P. 2013. Immobilisation and application of lipases in organic media. *Chem. Soc. Rev.* **42**:6406–36.

Ahmad S, Kamal MZ, Sankaranarayanan R, Rao NM. 2008. Thermostable *Bacillus subtilis* lipases: in vitro evolution and structural insight. *J. Mol. Biol.* **381**:324–40.

Ahmad S, Rao NM. 2009. Thermally denatured state determines refolding in lipase: mutational analysis. *Protein Sci.***18**:1183–1196.

Ali Y, Verger R, Abousalham A. 2012. Lipases or esterases: does it really matter? Toward a new bio-physico-chemical classification. *Methods Mol Biol.* **861**:31–51.

Amaki Y, Nakano H, Yamane T. 1994. Role of cysteine residues in esterase from *Bacillus stearothermophilus* and increasing its thermostability by the replacement of cysteines. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **40**:664–8

Anfinsen C. 1973. Principles that govern the folding of protein chains. *Science.* **181**:223–30.

Armstrong RW, Panzer NM. 1972. A comparison of the interaction of an acridine dye and a triphenylmethane dye with deoxyribonucleic acid. *J. Am. Chem. Soc.* **94**:7650–3.

Arpigny JL, Jaeger KE. 1999. Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties. *Biochem. J.* **343**:177–83.

Arunan E, Desiraju GR, Klein R a., Sadlej J, Scheiner S, Alkorta I, Clary DC, Crabtree RH, Dannenberg JJ, Hobza P, Kjaergaard HG, Legon AC, Mennucci B, Nesbitt DJ. 2011. Definition of the hydrogen bond. *Pure Appl. Chem.* **83**:1637–1641.

Augustyniak W, Brzezinska A a, Pijning T, Wienk H, Boelens R, Dijkstra BW, Reetz MT. 2012. Biophysical characterization of mutants of *Bacillus subtilis* lipase evolved for thermostability: factors contributing to increased activity retention. *Protein Sci.* **21**:487–97.

Bardwell JC, McGovern K, Beckwith J. 1991. Identification of a protein required for disulfide bond formation *in vivo*. *Cell* **67**:581–9.

BCC Reseearch. 2011. Enzymes in Industrial Applications: Global Markets. *Enzym. Ind. Appl. Glob. Mark.* Report Code: BIO030G

Van Beek HL, Wijma HJ, Fromont L, Janssen DB, Fraaije MW. 2014. Stabilization of cyclohexanone monooxygenase by a computationally designed disulfide bond spanning only one residue. *FEBS Open Bio* **4**:168–174.

Beer A. 1852. Bestimmung der Absorption des rothen [sic] Lichts in farbigen Flüssigkeiten. *Ann. Phys. Chem* **86**:78–88.

Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, Smith GP, Milton J, Brown CG, Hall KP, Evers DJ, Barnes CL, Bignell HR, Boutell JM, Bryant J, Carter RJ, Keira Cheetham R, Cox AJ, Ellis DJ, Flatbush MR, Gormley N a, Humphray SJ, Irving LJ, Karbelashvili MS, Kirk SM, Li H, Liu X, Maisinger KS, Murray LJ, Obradovic B, Ost T, Parkinson ML, Pratt MR, Rasolonjatovo IMJ, Reed MT, Rigatti R, Rodighiero C, Ross MT, Sabot A, Sankar S V, Scally A, Schroth GP, Smith M a ME, Smith VP, Spiridou A, Torrance PE, Tzonev SS, Vermaas EH, Walter K, Wu X, Zhang L, Alam MD, Anastasi C, Aniebo IC, Bailey DMD, Bancarz IR, Banerjee S, Barbour SG, Baybayan P a, Benoit V a, Benson KF, Bevis C, Black PJ, Boodhun A, Brennan JS, Bridgham J a, Brown RC, Brown A a, Buermann DH, Bundu A a, Burrows JC, Carter NP, Castillo N, Chiara E Catenazzi M, Chang S, Neil Cooley R, Crake NR, Dada OO, Diakoumakos KD, Dominguez-Fernandez B, Earnshaw DJ, Egbujor UC, Elmore DW, Etchin SS, Ewan MR, Fedurco M, Fraser LJ, Fuentes Fajardo K V, Scott Furey W, George D, Gietzen KJ, Goddard CP, Golda GS, Granieri P a, Green DE, Gustafson DL, Hansen NF, Harnish K, Haudenschild CD, Heyer NI, Hims MM, Ho JT, Horgan AM, Hoschler K, Hurwitz S, Ivanov D V, Johnson MQ, James T, Huw Jones T a, Kang G-D, Kerelska TH, Kersey

AD, Khrebtukova I, Kindwall AP, Kingsbury Z, Kokko-Gonzales PI, Kumar A, Laurent M a, Lawley CT, Lee SE, Lee X, Liao AK, Loch J a, Lok M, Luo S, Mammen RM, Martin JW, McCauley PG, McNitt P, Mehta P, Moon KW, Mullens JW, Newington T, Ning Z, Ling Ng B, Novo SM, O'Neill MJ, Osborne M a, Osnowski A, Ostadan O, Paraschos LL, Pickering L, Pike ACAC, Chris Pinkard D, Pliskin DP, Podhasky J, Quijano VJ, Raczy C, Rae VH, Rawlings SR, Chiva Rodriguez A, Roe PM, Rogers JJ, Rogert Bacigalupo MC, Romanov N, Romieu A, Roth RK, Rourke NJ, Ruediger ST, Rusman E, Sanches-Kuiper RM, Schenker MR, Seoane JM, Shaw RJ, Shiver MK, Short SW, Sizto NL, Sluis JP, Ernest Sohna Sohna J, Spence EJ, Stevens K, Sutton N, Szajkowski L, Tregidgo CL, Turcatti G, Vandevondele S, Verhovsky Y, Virk SM, Wakelin S, Walcott GC, Wang J, Worsley GJ, Yan J, Yau L, Zuerlein M, Mullikin JC, Hurles ME, McCooke NJ, West JS, Oaks FL, Lundberg PL, Klenerman D, Durbin R, Smith AJ, Fig S, Analyzer TG. 2008. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* **456**:53–9.

Berger BW, Gendron CM, Robinson CR, Kaler EW, Lenhoff AM. 2005. The role of protein and surfactant interactions in membrane-protein crystallization. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* **61**:724–30.

Berger M, Schneider MP. 1991. Lipases in organic solvents: The fatty acid chain length profile. *Biotechnol. Lett.* **13**:641–645.

Bershtein S, Segal M, Bekerman R, Tokuriki N, Tawfik DS. 2006. Robustness-epistasis link shapes the fitness landscape of a randomly drifting protein. *Nature.* **444**:929–32.

Besenmatter W, Kast P, Hilvert D. 2007. Relative Tolerance of Mesostable and Thermostable Protein Homologs to Extensive Mutation **506**:500–506.

Bhairi S. 1997. A Guide to the Properties and Uses of Detergents in Biology and Biochemistry. *Calbiochem-Novobiochem Corp. San Diego*. pp. 4–19.

Billerbeck S, Härle J, Panke S. 2013. The good of two worlds: increasing complexity in cell-free systems. *Curr. Opin. Biotechnol.* **24:**1037–43.

Bloom JDJ, Arnold FFH. 2009. In the light of directed evolution: pathways of adaptive protein evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106 Suppl** 9995–10000.

Blum JK, Ricketts MD, Bommarius AS. 2012. Improved thermostability of AEH by combining B-FIT analysis and structure-guided consensus method. *J. Biotechnol.* **160**:214–21.

Boersma YL, Dröge MJ, Quax WJ. 2007. Selection strategies for improved biocatalysts. *FEBS J.* **274**:2181–95.

Boersma YL, Pijning T, Bosma MS, van der Sloot AM, Godinho LF, Dröge MJ, Winter RT, van Pouderoyen G, Dijkstra BW, Quax WJ. 2008. Loop grafting of *Bacillus subtilis* lipase A: inversion of enantioselectivity. *Chem. Biol.* **15**:782–9.

Bommarius A, Riebel-Bommarius B. 2007. Biocatalysis: fundamentals and applications. Wiley-Blackwell.

Bornscheuer UT, Huisman GW, Kazlauskas RJ, Lutz S, Moore JC, Robins K. 2012. Engineering the third wave of biocatalysis. *Nature* **485**:185–94.

Bornscheuer U, Bessler C, Srinivas R, Krishna S. 2002. Optimizing lipases and related enzymes for efficient application. *Trends Biotechnol.* **20**:433–7.

Bornscheuer U. 2002. Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. *FEMS Microbiol. Rev.* **26**:73–81.

Bosshart A, Panke S, Bechtold M. 2013. Systematic optimization of interface interactions increases the thermostability of a multimeric enzyme. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **52**:9673–6.

Brockmeier U. 2006. New strategies to optimize the secretion capacity for heterologous proteins in *Bacillus subtilis*. Doctoral dissertation. University of Bochum.

Brockmeier U, Wendorff M, Eggert T. 2006. Versatile expression and secretion vectors for *Bacillus subtilis*. *Curr. Microbiol.* **52**:143–8.

Brzozowski a M, Derewenda U, Derewenda ZS, Dodson GG, Lawson DM, Turkenburg JP,

Bjorkling F, Huge-Jensen B, Patkar S a, Thim L. 1991. A model for interfacial activation in lipases from the structure of a fungal lipase-inhibitor complex. *Nature*. **351**:491–4

Buxbaum E. 2012. Cationic Electrophoresis. In: Kurien, BT, Scofield, RH, editors. *Protein Electrophor. Methods Protoc. Methods Mol. Biol.* Totowa, NJ: Springer Science + Business Media. *Methods in Molecular Biology* **869**:55–63.

Cambon E, Piamtongkam R, Bordes F, Duquesne S, Laguerre S, Nicaud J-M, Marty A. 2010. A new *Yarrowia lipolytica* expression system: An efficient tool for rapid and reliable kinetic analysis of improved enzymes. *Enzyme Microb. Technol.* **47**:91–96.

Chang S, Cohen S. 1979. High frequency transformation of *Bacillus subtilis* protoplasts by plasmid DNA. *Mol. Gen. Genet. MGG.* **115**:111–115.

Chen J, Yu H, Liu C, Liu J, Shen Z. 2012. Improving stability of nitrile hydratase by bridging the salt-bridges in specific thermal-sensitive regions. *J. Biotechnol.* **164**:354–62.

Chen K, Arnold FH. 1993. Tuning the activity of an enzyme for unusual environments: sequential random mutagenesis of subtilisin E for catalysis in dimethylformamide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **90**:5618–22.

Chica R a, Doucet N, Pelletier JN. 2005. Semi-rational approaches to engineering enzyme activity: combining the benefits of directed evolution and rational design. *Curr. Opin. Biotechnol.* **16**:378–84.

Chothia C. 1974. Hydrophobic bonding and accessible surface area in proteins. *Nature* **248:**338–339.

Christensen NJ, Kepp KP. 2013. Stability mechanisms of laccase isoforms using a modified FoldX protocol applicable to widely different proteins. *J. Chem. Theory Comput*. **9**:3210–3223.

Cunningham BC, Wells J a. 1989. High-resolution epitope mapping of hGH-receptor interactions by alanine-scanning mutagenesis. *Science* **244**:1081–5.

Dalbey RE, Von Heijne G. 1992. Signal peptidases in prokaryotes and eukaryotes--a new protease family. *Trends Biochem. Sci.* **17**:474–8.

Damborsky J, Brezovsky J. 2014. Computational tools for designing and engineering enzymes. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **19**:8–16.

Dartois V, Baulard a, Schanck K, Colson C. 1992. Cloning, nucleotide sequence and expression in *Escherichia coli* of a lipase gene from *Bacillus subtilis* 168. *Biochim. Biophys. Acta* **1131**:253–60.

De S, Girigoswami A, Das S. 2005. Fluorescence probing of albumin-surfactant interaction. *J. Colloid Interface Sci.* **285**:562–73.

Deep S, Ahluwalia J. 2001. Interaction of bovine serum albumin with anionic surfactants. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**:4583–91.

Delorme V, Dhouib R, Canaan S, Fotiadu F, Carrière F, Cavalier J-F. 2011. Effects of surfactants on lipase structure, activity, and inhibition. *Pharm. Res.* **28**:1831–42.

Depuydt M, Leonard SE, Vertommen D, Denoncin K, Morsomme P, Wahni K, Messens J, Carroll KS, Collet J-F. 2009. A periplasmic reducing system protects single cysteine residues from oxidation. *Science* **326**:1109–11.

Derewenda Z, Derewenda U, Dodson G. 1992. The crystal and molecular structure of the *Rhizomucor miehei* triacylglyceride lipase at 1.9 Å resolution. *J. Mol. Biol.*818–839.

Desnuelle P, Sarda L. 1958. Action de la lipase pancreatique sur les esters en emulsion. *Biochim. Biophys. Acta.* **30**:513–21.

Dill K. 1990. Dominant forces in protein folding. *Biochemistry* **29**:7133–55.

Dombkowski A a, Sultana KZ, Craig DB. 2014. Protein disulfide engineering. *FEBS Lett.* **588**:206–12.

Donald J. 2011. Salt bridges: Geometrically specific, designable interactions. *Proteins* **79**:898–915.

Dröge MJ, Boersma YL, van Pouderoyen G, Vrenken TE, Rüggeberg CJ, Reetz MT, Dijkstra BW, Quax WJ. 2006. Directed evolution of *Bacillus subtilis* lipase A by use

of enantiomeric phosphonate inhibitors: crystal structures and phage display selection. *Chembiochem* **7**:149–57.

Dwyer MA, Looger LL, Hellinga HW. 2004. Computational design of a biologically active enzyme. *Science* **304**:1967–1971.

Edelheit O, Hanukoglu A, Hanukoglu I. 2009. Simple and efficient site-directed mutagenesis using two single-primer reactions in parallel to generate mutants for protein structure-function studies. *BMC Biotechnol.* **9**:61.

Eggers D, Blanch H, Prausnitz J. 1989. Extractive catalysis: solvent effects on equilibria of enzymatic reactions in two-phase systems. *Enzyme Microb. Technol.* **11**:84–89.

Eggert T, Pencreac'h G, Douchet I, Verger R, Jaeger KE. 2000. A novel extracellular esterase from *Bacillus subtilis* and its conversion to a monoacylglycerol hydrolase. *Eur. J. Biochem.* **267**:6459–69.

Eggert T, van Pouderoyen G, Dijkstra BW, Jaeger KE. 2001. Lipolytic enzymes LipA and LipB from *Bacillus subtilis* differ in regulation of gene expression, biochemical properties, and three-dimensional structure. *FEBS Lett.* **502**:89–92.

Eggert T. 2001. Die lipolytischen Enzyme LipA und LipB von *Bacillus subtilis* : Charakterisierung und Optimierung mit gerichteter Evolution. Doctoral dissertation. University of Bochum.

Eijsink VGH, Bjørk A, Gåseidnes S, Sirevåg R, Synstad B, van den Burg B, Vriend G. 2004. Rational engineering of enzyme stability. *J. Biotechnol.* **113**:105–20.

Elleuche S, Schröder C, Sahm K, Antranikian G. 2014. Extremozymes-biocatalysts with unique properties from extremophilic microorganisms. *Curr. Opin. Biotechnol.* **29**:116–123.

Eriksson T, Börjesson J, Tjerneld F. 2002. Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Enzyme Microb. Technol.* **31**:353–364.

Esvelt KM, Carlson JC, Liu DR. 2011. A system for the continuous directed evolution of biomolecules. *Nature* **472**:499–503.

Fellinger K, Leonhardt H, Spada F. 2008. A mutagenesis strategy combining systematic alanine scanning with larger mutations to study protein interactions. *Anal. Biochem.* **373**:176–8.

Fersht A. 1999. Structure and mechanism in protein science: a guide to enzyme catalysis and protein folding. Macmillan. New York: Freeman.

Few A, Ottewill R, Parreira H. 1955. The interaction between bovine plasma albumin and dodecyltrimethylammonium bromide. *Biochim. Biophys. Acta* **18**:3–4.

Finkelstein A V, Ptitsyn OB. 2002. Protein physics. *Phys. World*. Amsterdam: Academic Press; an Imprint of Elsevier Science.

Fitter J. 2003. A measure of conformational entropy change during thermal protein unfolding using neutron spectroscopy. *Biophys. J.* **84**:3924–30.

Frushicheva MP, Mills MJ, Schopf P, Singh MK, Prasad RB, Warshel A. 2014. Computer aided enzyme design and catalytic concepts. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **21**:56–62.

Funke S. 2005. Optimierung einer Lipase aus *Bacillus subtilis* mit neuen Methoden der gerichteten Evolution. Doctoral dissertation. Heinrich Heine University of Dueseldorf.

Funke SA, Eipper A, Reetz MT, Otte N, Thiel W, van Pouderoyen G, Dijkstra BW, Jaeger K-E, Eggert T. 2003. Directed Evolution of an Enantioselective *Bacillus subtilis* Lipase. *Biocatal. Biotransformation* **21**:67–73.

Garavito RM, Ferguson-Miller S. 2001. Detergents as tools in membrane biochemistry. *J. Biol. Chem.* **276**:32403–6.

Gasteiger E, Hoogland C. 2005. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *Proteomics Protocols.* **112**:531–52.

Gaunt TR. 2003. Manual 768 or 384 well microplate gel "dry" electrophoresis for PCR checking and SNP genotyping. *Nucleic Acids Res.* **31**:48e–48.

GDR H, Sharon N, Australia E. 1984. Nomenclature and symbolism for amino acids and peptides. *Eur. J. Biochem.* ***138****:9.*

Gelamo EL, Silva CHTP, Imasato H, Tabak M. 2002. Interaction of bovine (BSA) and human (HSA) serum albumins with ionic surfactants: spectroscopy and modelling. *Biochim. Biophys. Acta* **1594**:84–99.

Georgescauld F, Moynié L, Habersetzer J, Cervoni L, Mocan I, Borza T, Harris P, Dautant A, Lascu I. 2013. Intersubunit ionic interactions stabilize the nucleoside diphosphate kinase of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One* **8**:e57867.

Gerday C, Aittaleb M, Bentahir M, Chessa JP, Claverie P, Collins T, D'Amico S, Dumont J, Garsoux G, Georlette D, Hoyoux a, Lonhienne T, Meuwis M a, Feller G. 2000. Cold-adapted enzymes: from fundamentals to biotechnology. *Trends Biotechnol.* **18**:103–7.

Gervasio FL, Chelli R, Marchi M, Procacci P. 2001. Determination of the potential of mean force of aromatic amino acid complexes in various solvents using molecular dynamics simulations : The case of the Tryptophan - Histidine pair. *J. Phys. Chem. B.* **105**:7835–7846.

Global Industry Analysts. 2011. Global report on Industrial Enzymes markets. http://www.prweb.com/releases/industrial_enzymes/proteases_carbohydrases/prweb8121185.htm.

Goh PH, Illias RM, Goh KM. 2012. Domain replacement to elucidate the role of B domain in CGTase thermostability and activity. *Process Biochem.* **47**:2123–2130.

Gonenne A, Ernst R. 1978. Solubilization of membrane proteins by sulfobetaines, novel zwitterionic surfactants. *Anal. Biochem.* **87**:28–38.

Gromiha MM, Pathak MC, Saraboji K, Ortlund E a, Gaucher E a. 2013. Hydrophobic environment is a key factor for the stability of thermophilic proteins. *Proteins* **81**:715–21.

Guerois R, Nielsen JE, Serrano L. 2002. Predicting changes in the stability of proteins and protein complexes: a study of more than 1000 mutations. *J. Mol. Biol.* **320**:369–87.

Gull N, Chodankar S, Aswal VK, Sen P, Khan RH, Kabir-ud-Din. 2009. Spectroscopic studies on the interaction of cationic surfactants with bovine serum albumin. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **69**:122–8.

Gumulya Y, Reetz MT. 2011. Enhancing the thermal robustness of an enzyme by directed evolution: least favorable starting points and inferior mutants can map superior evolutionary pathways. *ChemBioChem* **12**:2502–10.

Gupta MN, Roy II. 2004. Enzymes in organic media: Forms, functions and applications. *Eur. J. Biochem.* **2583**:2575–2583.

Gupta R, Gupta N, Rathi P. 2004. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **64**:763–81.

Hanahan D. 1983. Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *J. Mol. Biol.* **166**:557–580.

Harayama S. 1998. Artificial evolution by DNA shuffling. *Trends Biotechnol.* **16**:76–82.

Hasan F, Shah AA, Hameed A. 2006. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme Microb. Technol.* **39**:235–251.

Hausmann S, Ju F, Gmbh E. 2010. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Ed. Kenneth N. Springer.

Hayes RJ, Bentzien J, Ary ML, Hwang MY, Jacinto JM, Vielmetter J, Kundu A, Dahiyat BI. 2002. Combining computational and experimental screening for rapid optimization of protein properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**:15926–31.

Heikinheimo P, Goldman a, Jeffries C, Ollis DL. 1999. Of barn owls and bankers: a lush variety of alpha/beta hydrolases. *Structure* **7**:141–6.

Heinzman C, Kirchgessner T, Tanaka R, Komaromy MC, Schotz MC. 1987. Cloning of rat hepatic lipase cDNA: evidence for a lipase gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **84**:1526–30.

Helistö P, Korpela T. 1998. Effects of detergents on activity of microbial lipases as measured by the nitrophenyl alkanoate esters method. *Enzyme Microb. Technol.* **23**:113–117.

Hermann R. 1972. Theory of hydrophobic bonding. II. Correlation of hydrocarbon solubility in water with solvent cavity surface area. *J. Phys. Chem.* **1465**:2754–2759.

Hudson EP, Eppler RK, Clark DS. 2005. Biocatalysis in semi-aqueous and nearly anhydrous conditions. *Curr. Opin. Biotechnol.* **16**:637–43.

Jaeger J, Sorensen K, Wolff SP. 1994. Peroxide accumulation in detergents. *J. Biochem. Biophys. Methods* **29**:77–81.

Jaeger KE, Dijkstra BW, Reetz MT. 1999. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. *Annu. Rev. Microbiol.* **53**:315–51.

Jaeger KE, Ransac S, Koch HB, Ferrato F, Dijkstra BW. 1993. Topological characterization and modeling of the 3D structure of lipase from *Pseudomonas aeruginosa*. *FEBS Lett.* **332**:143–9.

Jaeger KE, Reetz MT. 1998. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. *Trends Biotechnol.* **16**:396–403.

Jaeger K-E, Eggert T. 2004. Enantioselective biocatalysis optimized by directed evolution. *Curr. Opin. Biotechnol.* **15**:305–13.

Jandová Z, Tichý P. 1987. Selective regeneration of *Bacillus subtilis* protoplasts transformed to kanamycin resistance. *Folia Microbiol.* **32**:82–4.

Jirgensons B. 1976. Conformational transitions of non-helical proteins effected by dodecyl sulfate. Circular dichroism of alpha1-acid glycoprotein, Bence Jones protein, carbonic anhydrase B, deoxyribonuclease, pepsinogen, and plasminogen. *Biochim. Biophys. Acta* **434**:58–68.

Johnson K. 2007. What's an ionic liquid? *Interface-Electrochemical Soc.* **16**:38–41.

Joosten H. 2007. From Data to Medicine. Doctoral Dissertation. University of Wageningen.

Kamal MZ, Ahmad S, Molugu TR, Vijayalakshmi A, Deshmukh M V, Sankaranarayanan R, Rao NM. 2011. *In vitro* evolved non-aggregating and thermostable lipase: structural and thermodynamic investigation. *J. Mol. Biol.* **413**:726–41.

Kamal MZ, Mohammad TAS, Krishnamoorthy G, Rao NM. 2012. Role of active site rigidity in activity: MD simulation and fluorescence study on a lipase mutant. *PLoS One* **7**:e35188.

Kamal MZ, Ali J, Rao NM. 2013. Binding of bis-ANS to *Bacillus subtilis* lipase: a combined computational and experimental investigation. *Biochim. Biophys. Acta* **1834**:1501–9.

Kapoor M, Gupta MN. 2012. Lipase promiscuity and its biochemical applications. *Process Biochem.* **47**:555–569.

Katz S, Shaw ME, Chillag S, Miller JE, Virginia W. 1972. Protein - ionic detergent interaction: volume and electrophoretic changes produced by sodium dodecyl sulfate reaction with bovine serum albumin. *J. Biol. Chem.* **247**:5228–5233.

Khan S, Vihinen M. 2010. Performance of protein stability predictors. *Hum. Mutat.* **31**:675–84.

Khmelnitsky YL, Rich JO. 1999. Biocatalysis in nonaqueous solvents. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**:47–53.

Kirk O, Borchert TV, Fuglsang CC. 2002. Industrial enzyme applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* **13**:345–351.

Klibanov a M. 1997. Why are enzymes less active in organic solvents than in water? *Trends Biotechnol.* **15**:97–101.

Klibanov A. 1983. Stabilization of enzymes against thermal inactivation. *Adv. Appl. Microbiol* **29**:1–28.

Klibanov A. 2001. Improving enzymes by using them in organic solvents. *Nature* **409**:241-246.

Koga N, Tatsumi-Koga R, Liu G, Xiao R, Acton TB, Montelione GT, Baker D. 2012. Principles for designing ideal protein structures. *Nature* **491**:222–7.

Korendovych I V, DeGrado WF. 2014. Catalytic efficiency of designed catalytic proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **27**:113–121.

Kosuri S, Church GM. 2014. Large-scale *de novo* DNA synthesis: technologies and applications. *Nat. Methods* **11**:499–507.

Koudelakova T, Chaloupkova R, Brezovsky J, Prokop Z, Sebestova E, Hesseler M, Khabiri M, Plevaka M, Kulik D, Kuta Smatanova I, Rezacova P, Ettrich R, Bornscheuer UT, Damborsky J. 2013. Engineering enzyme stability and resistance to an organic cosolvent by modification of residues in the access tunnel. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **52**:1959–63.

Kourist R, Jochens H, Bartsch S, Kuipers R, Padhi SK, Gall M, Böttcher D, Joosten H-J, Bornscheuer UT. 2010. The alpha/beta-hydrolase fold 3DM database (ABHDB) as a tool for protein engineering. *Chembiochem* **11**:1635–43.

Kozarewa I, Turner DJ. 2011. High-Throughput Next Generation Sequencing. Ed. Young Min Kwon, Steven C. Ricke **733**. Methods in Molecular Biology.

Krieger E, Darden T, Nabuurs SB, Finkelstein A, Vriend G. 2004. Making optimal use of empirical energy functions: force-field parameterization in crystal space. *Proteins* **57**:678–83.

Kumar S, Nussinov R. 1999. Salt bridge stability in monomeric proteins. *J. Mol. Biol.* **293**:1241–55.

Kumar S, Nussinov R. 2001. How do thermophilic proteins deal with heat? *Cell. Mol. Life Sci. C.* **58**:1216–1233.

Kumar V, Yedavalli P, Gupta V, Rao NM. 2014. Engineering lipase A from mesophilic *Bacillus subtilis* for activity at low temperatures. *PEDS* **27**:73–82.

Kunst F, Ogasawara N, Moszer I, Albertini a M, Alloni G, Azevedo V, Bertero MG, Bessières P, Bolotin a, Borchert S, Borriss R, Boursier L, Brans a, Braun M, Brignell SC, Bron S, Brouillet S, Bruschi C V, Caldwell B, Capuano V, Carter NM, Choi SK, Codani JJ, Connerton IF, Danchin A. 1997. The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*. **390**:249–56.

Laemmli U. 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*. **227**:680–685.

Lailaja VP, Chandrasekaran M. 2013. Detergent compatible alkaline lipase produced by marine *Bacillus smithii* BTMS 11. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **29**:1349–60.

Lambert J. 1760. Photometria sive de mensura et gradibus luminis colorum et umbrae. *Sumptibus Vidae Eberhardi Klett*. Ed. Anding E. Verlag von Wilhelm Engelmann.

Lee B, Richards FM. 1971. The interpretation of protein structures: estimation of static accessibility. *J. Mol. Biol.* **55**:379–400.

Van Leeuwen JGE, Wijma HJ, Floor RJ, van der Laan J-M, Janssen DB. 2012. Directed evolution strategies for enantiocomplementary haloalkane dehalogenases: from chemical waste to enantiopure building blocks. *Chembiochem* **13**:137–48.

Lesuisse E, Schanck K, Colson C. 1993. Purification and preliminary characterization of the extracellular lipase of *Bacillus subtilis* 168, an extremely basic pH-tolerant enzyme. *Eur. J. Biochem.* **216**:155–60.

Lever M. 1977. Peroxides in detergents as interfering factors in biochemical analysis. *Anal. Biochem.* **83**:274–284.

Li H, Kankaanpää A, Xiong H, Hummel M, Sixta H, Ojamo H, Turunen O. 2013. Thermostabilization of extremophilic *Dictyoglomus thermophilum* GH11 xylanase by an N-terminal disulfide bridge and the effect of ionic liquid [emim]OAc on the enzymatic performance. *Enzyme Microb. Technol.* **53**:414–9.

Li X-L, Zhang W-H, Wang YY-D, Dai Y-J, Zhang H-T, Wang H-K, Lu F-P, Shi Y. 2014. A high-detergent-performance, cold-adapted lipase from *Pseudomonas stutzeri* PS59 suitable for detergent formulation. *J. Mol. Catal. B Enzym.* **102**:16–24.

Lippow SM, Moon TS, Basu S, Yoon S-H, Li X, Chapman B a, Robison K, Lipovšek D, Prather KLJ. 2010. Engineering enzyme specificity using computational design of a defined-sequence library. *Chem. Biol.* **17**:1306–15.

Liu Y-Y, Xu J-H, Hu Y. 2000. Enhancing effect of Tween 80 on lipase performance in enantioselective hydrolysis of ketoprofen ester. *J. Mol. Catal. B Enzym.* **10**:523–529.

Lo M-C, Aulabaugh A, Jin G, Cowling R, Bard J, Malamas M, Ellestad G. 2004. Evaluation of fluorescence-based thermal shift assays for hit identification in drug discovery. *Anal. Biochem.* **332**:153–9.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL. 2000. Hierarchical Structure of Proteins. *Mol. Cell Biol.* 4th edition, Figure 3–2.

Luetz S, Giver L, Lalonde J. 2008. Engineered enzymes for chemical production. *Biotechnol. Bioeng.* **101**:647–53.

Lund S, Orlowski S, de Foresta B, Champeil P, le Maire M, Møller J V. 1989. Detergent structure and associated lipid as determinants in the stabilization of solubilized Ca2+-ATPase from sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* **264**:4907–15.

Lundberg KS, Shoemaker DD, Adams MW, Short JM, Sorge J a, Mathur EJ. 1991. High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from *Pyrococcus furiosus*. *Gene* **108**:1–6.

Lunkenheimer K, Czichocki G. 1993. On the stability of aqueous sodium dodecyl sulfate solutions. *J. Colloid Interface Sci.* **160**:509–510.

Lutz S, Patrick WM. 2004. Novel methods for directed evolution of enzymes: quality, not quantity. *Curr. Opin. Biotechnol.* **15**:291–7.

Magliery TJ, Lavinder JJ, Sullivan BJ. 2011. Protein stability by number: high-throughput and statistical approaches to one of protein science's most difficult problems. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **15**:443–51.

Mak WS, Siegel JB. 2014. Computational enzyme design: Transitioning from catalytic proteins to enzymes. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **27**:87–94.

Makhatadze G, Loladze V. 2003. Contribution of surface salt bridges to protein stability: guidelines for protein engineering. *J. Mol. Biol.* **327**:1135–48.

Mande SC, Sobhia ME. 2000. Structural characterization of protein-denaturant interactions: crystal structures of hen egg-white lysozyme in complex with DMSO and guanidinium chloride. *Protein Eng.* **13**:133–41.

Manning MC, Chou DK, Murphy BM, Payne RW, Katayama DS. 2010. Stability of protein pharmaceuticals: an update. *Pharm. Res.* **27**:544–75.

Mansfeld J, Vriend G, Dijkstra BW, Veltman OR, Van den Burg B, Venema G, Ulbrich-Hofmann R, Eijsink VG. 1997. Extreme stabilization of a thermolysin-like protease by an engineered disulfide bond. *J. Biol. Chem.* **272**:11152–6.

Martin JL, Bardwell JC, Kuriyan J. 1993. Crystal structure of the DsbA protein required for disulphide bond formation *in vivo*. *Nature* **365**:464–468.

Matsumura I, Ellington a D. 2001. *In vitro* evolution of beta-glucuronidase into a beta-galactosidase proceeds through non-specific intermediates. *J. Mol. Biol.* **305**:331–9.

Matthews BW, Nicholson H, Becktel WJ. 1987. Enhanced protein thermostability from site-directed mutations that decrease the entropy of unfolding. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **84**:6663–7.

Miroux B, Walker JE. 1996. Over-production of proteins in *Escherichia coli*: mutant hosts that allow synthesis of some membrane proteins and globular proteins at high levels. *J. Mol. Biol.* **260**:289–98.

Mogensen JE, Sehgal P, Otzen DE. 2005. Activation, inhibition, and destabilization of *Thermomyces lanuginosus* lipase by detergents. *Biochemistry* **44**:1719–30.

Moorhouse M, Barry P. 2004. Bioinformatics, Biocomputing and Perl. John Wiley & Sons, Ltd.

Morley KL, Kazlauskas RJ. 2005. Improving enzyme properties: when are closer mutations better? *Trends Biotechnol.* **23**:231–7.

Muslin EH, Clark SE, Henson C a. 2002. The effect of proline insertions on the

thermostability of a barley alpha-glucosidase. *Protein Eng.* **15**:29–33.

Nacke H, Will C, Herzog S, Nowka B, Engelhaupt M, Daniel R. 2011. Identification of novel lipolytic genes and gene families by screening of metagenomic libraries derived from soil samples of the German Biodiversity Exploratories. *FEMS Microbiol. Ecol.* **78**:188–201.

Nagarajan S. 2012. New tools for exploring "old friends-microbial lipases". *Appl. Biochem. Biotechnol.* **168**:1163–96.

Nardini M, Dijkstra B. 1999. α/β hydrolase fold enzymes: the family keeps growing. *Curr. Opin. Struct. Biol.* ***9***:732–7.

Neuhoff V, Arold N, Taube D, Ehrhardt W. 1988. Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue. *Electrophoresis*. **9**:255-62.

O'Neil KT, DeGrado WF. 1990. A thermodynamic scale for the helix-forming tendencies of the commonly occurring amino acids. *Science* **250**:646–51.

Ogino H, Uchiho T, Doukyu N, Yasuda M, Ishimi K, Ishikawa H. 2007. Effect of exchange of amino acid residues of the surface region of the PST-01 protease on its organic solvent-stability. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **358**:1028–33.

Ollis DL, Cheah E, Cygler M, Dijkstra B, Frolow F, Franken SM, Harel M, Remington SJ, Silman I, Schrag J, Sussman JL, Verschueren KHG, Goldman A. 1992. The α / β hydrolase fold. *Protein Eng. Des. Sel.* **5**:197–211.

Olsen HS, Falholt P. 1998. The role of enzymes in modern detergency. *J. Surfactants Deterg.* **1**:555–567.

Von der Osten C, Branner S, Hastrup S, Hedegaard L, Rasmussen MD, Bisgård-Frantzen H, Carlsen S, Mikkelsen JM. 1993. Protein engineering of subtilisins to improve stability in detergent formulations. *J. Biotechnol.* **28**:55–68.

Pace CN, Alston RW, Shaw KL. 2000. Charge-charge interactions influence the denatured state ensemble and contribute to protein stability. *Protein Sci.* **9**:1395–8.

Pace CN, Grimsley GR, Scholtz JM. 2009. Protein ionizable groups: pK values and their contribution to protein stability and solubility. *J. Biol. Chem.* **284**:13285–9.

Pace C, Shirley B, McNutt M, Gajiwala K. 1996. Forces contributing to the conformational stability of proteins. *FASEB J.* **10:**75–83.

Palackal N, Brennan Y, Callen WN, Dupree P, Frey G, Goubet F, Hazlewood GP, Healey S, Kang YE, Kretz KA, Lee EDD, Tan X, Tomlinson GL, Verruto J, Wong VWK, Mathur EJ, Short JAYM, Robertson DANE, Steer BA. 2004. An evolutionary route to xylanase process fitness. *Protein Sci.* **13**:494–503.

Pantoliano MW, Petrella EC, Kwasnoski JD, Lobanov VS, Myslik J, Graf E, Carver T, Asel E, Springer B a., Lane P, Salemme FR. 2001. High-Density Miniaturized Thermal Shift Assays as a General Strategy for Drug Discovery. *J. Biomol. Screen.* **6**:429–440.

Parris N, Joubran RF, Lu DP. 1994. Triglyceride Microemulsions: Effect of Nonionic Surfactants and the Nature of the Oil. *J. Agric. Food Chem.* **42**:1295–1299.

Peimbert M, Segovia L. 2003. Evolutionary engineering of a beta - Lactamase activity on a D-Ala D-Ala transpeptidase fold. *Protein Eng. Des. Sel.* **16**:27–35.

Petersen MN, Fojan P, Petersen S. 2001. How do lipases and esterases work: the electrostatic contribution. *J. Biotechnol.* **85**:115–47.

Pezzullo M, Del Vecchio P, Mandrich L, Nucci R, Rossi M, Manco G. 2013. Comprehensive analysis of surface charged residues involved in thermal stability in *Alicyclobacillus acidocaldarius* esterase. *Protein Eng. Des. Sel.* **26**:47–58.

Pfeil W. 2001. Protein Stability and Folding Supplement 1: A Collection of Thermodynamic Data. *Zhurnal Eksp. i Teor. Fiz.* Supplement. Springer Berlin Heidelberg.

Pleiss J, Fischer M, Schmid RD. 1998. Anatomy of lipase binding sites: the scissile fatty acid binding site. *Chem. Phys. Lipids* **93**:67–80.

Pohl S, Harwood C. 2010. Heterologous Protein Secretion by *Bacillus* Species: From the Cradle to the Grave. *Adv. Appl. Microbiol.* **73**:1-25.

Poklar N, Lah J, Salobir M, Macek P, Vesnaver G. 1997. pH and temperature-induced molten globule-like denatured states of equinatoxin II: a study by UV-melting, DSC, far- and near-UV CD spectroscopy, and ANS fluorescence. *Biochemistry* **36**:14345–52.

Polizzi KM, Bommarius AS, Broering JM, Chaparro-Riggers JF. 2007. Stability of biocatalysts. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **11**:220–5.

Porath J, Carlsson J, Olsson I, Belfrage G. 1975. Metal chelate affinity chromatography, a new approach to protein fractionation. *Nature*. **258**:598-99

Potapov V, Cohen M, Schreiber G. 2009. Assessing computational methods for predicting protein stability upon mutation: good on average but not in the details. *Protein Eng. Des. Sel.* **22**:553–60.

Van Pouderoyen G, Eggert T, Jaeger K-E, Dijkstra BW. 2001. The crystal structure of *Bacillus subtilis* lipase: a minimal α/β hydrolase fold enzyme. *J. Mol. Biol.* **309**:215–226.

Prajapati RS, Das M, Sreeramulu S, Sirajuddin M, Srinivasan S, Krishnamurthy V, Ranjani R, Ramakrishnan C, Varadarajan R. 2007. Thermodynamic Effects of Proline Introduction on Protein Stability. *Proteins* **491**:480–491.

Puls M. 2007. Evolutive Optimierung von Lipasen aus *Bacillus subtilis* und *Pseudomonas aeruginosa*. Doctoral Dissertation. Heinrich Heine University Duesseldorf.

Punta M, Coggill PC, Eberhardt RY, Mistry J, Tate J, Boursnell C, Pang N, Forslund K, Ceric G, Clements J, Heger A, Holm L, Sonnhammer ELL, Eddy SR, Bateman A, Finn RD. 2012. The Pfam protein families database. *Nucleic Acids Res.* **40**:D290–301.

Raghunathan G, Sokalingam S, Soundrarajan N, Madan B, Munussami G, Lee S-G. 2013. Modulation of protein stability and aggregation properties by surface charge engineering. *Mol. Biosyst.* **9**:2379–89.

Rangheard MS, Langrand G, Triantaphylides C, Baratti J. 1989. Multi-competitive enzymatic reactions in organic media: a simple test for the determination of lipase fatty acid specificity. *Biochim. Biophys. Acta* **1004**:20–8.

Rank D, Baybayan P, Bettman B, Bibillo A, Bjornson K, Chaudhuri B, Christians F, Cicero R, Clark S, Dalal R, Dixon J, Foquet M, Gaertner A, Hardenbol P, Heiner C, Hester K, Holden D, Kearns G, Kong X, Kuse R, Lacroix Y, Lin S, Lundquist P, Ma C, Marks P, Maxham M, Murphy D, Park I, Pham T, Phillips M, Roy J, Sebra R, Shen G, Sorenson J, Tomaney A, Travers K, Trulson M, Vieceli J, Wegener J, Wu D, Yang A, Zaccarin D, Zhao P, Zhong F, Korlach J, Turner S. 2009. Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules. *Science* **323**:133–138.

Van Rantwijk F, Sheldon R a. 2007. Biocatalysis in ionic liquids. *Chem. Rev.* **107**:2757–85.

Raschke TM, Tsai J, Levitt M. 2001. Quantification of the hydrophobic interaction by simulations of the aggregation of small hydrophobic solutes in water. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**:5965–9.

Rathi PC. 2014. Development of computational approaches for knowledge-driven protein engineering aimed at improving thermostability. Doctoral Dissertation. Heinrich Heine University Duesseldorf.

Rathi PC, Radestock S, Gohlke H. 2012. Thermostabilizing mutations preferentially occur at structural weak spots with a high mutation ratio. *J. Biotechnol.* **159**:135–44.

Reetz MT. 2004. Controlling the enantioselectivity of enzymes by directed evolution: practical and theoretical ramifications. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**:5716–22.

Reetz MT, Bocola M, Carballeira JD, Zha D, Vogel A. 2005. Expanding the range of substrate acceptance of enzymes: combinatorial active-site saturation test. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **44**:4192–6.

Reetz MT, Carballeira JD, Vogel A. 2006. Iterative saturation mutagenesis on the basis of B factors as a strategy for increasing protein thermostability. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **45**:7745–51.

Reetz MT, Kahakeaw D, Lohmer R. 2008. Addressing the numbers problem in directed evolution. *Chembiochem* **9**:1797–804.

Renault L, Nègre V, Hotelier T, Cousin X, Marchot P, Chatonnet A. 2005. New friendly tools for users of ESTHER, the database of the alpha/beta-hydrolase fold superfamily of proteins. *Chem. Biol. Interact.* **157-158**:339–43.

Reyes-Duarte D, Polaina J, López-Cortés N, Alcalde M, Plou FJ, Elborough K, Ballesteros A, Timmis KN, Golyshin PN, Ferrer M, López-cortøs N. 2005. Conversion of a carboxylesterase into a triacylglycerol lipase by a random mutation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **44**:7553–7.

Reynolds J a, Gilbert DB, Tanford C. 1974. Empirical correlation between hydrophobic free energy and aqueous cavity surface area. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **71**:2925–7.

Reynolds J a, Tanford C. 1970. Binding of dodecyl sulfate to proteins at high binding ratios. Possible implications for the state of proteins in biological membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **66**:1002–7.

Reynolds JA, Tanford C, Carolina N. 1970. Macromolecules : The gross conformation of protein - sodium dodecyl sulfate complexes. J. Biol. Chem. **245**:5161-5165.

Richter F, Blomberg R, Khare SD, Kiss G, Kuzin AP, Smith AJT, Gallaher J, Pianowski Z, Helgeson RC, Grjasnow A, Xiao R, Seetharaman J, Su M, Vorobiev S, Lew S, Forouhar F, Kornhaber GJ, Hunt JF, Montelione GT, Tong L, Houk KN, Hilvert D, Baker D. 2012. Computational design of catalytic dyads and oxyanion holes for ester hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **134**:16197–206.

Romero P a, Arnold FH. 2009. Exploring protein fitness landscapes by directed evolution. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **10**:866–76.

Ronaghi M. 1998. DNA Sequencing: A sequencing method based on real-time pyrophosphate. *Science* **281**:363–365.

Röhm O. 1913. Verfahren zum Reinigen von haeuslichen und gewerblichen Gegenstaenden und Stoffen aller Art. *German patent* DE 283 923.

Röllen K. 2012. Release of *Bacillus subtilis* lipase LipA upon heterologous expression in *Eschereichia coli*. Master Thesis. Heinrich Heine University Duesseldorf.

Röthlisberger D, Khersonsky O, Wollacott AM, Jiang L, DeChancie J, Betker J, Gallaher JL, Althoff E a, Zanghellini A, Dym O, Albeck S, Houk KN, Tawfik DS, Baker D. 2008. Kemp elimination catalysts by computational enzyme design. *Nature* **453**:190–5.

Ruiz-Peña M, Oropesa-Nuñez R, Pons T, Louro SRW, Pérez-Gramatges A. 2010. Physico-chemical studies of molecular interactions between non-ionic surfactants and bovine serum albumin. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **75**:282–9.

Sadeghi M, Naderi-Manesh H, Zarrabi M, Ranjbar B. 2006. Effective factors in thermostability of thermophilic proteins. *Biophys. Chem.* **119**:256–70.

Sánchez-Ruiz JM, López-Lacomba JL, Cortijo M, Mateo PL. 1988. Differential scanning calorimetry of the irreversible thermal denaturation of thermolysin. *Biochemistry* **27**:1648–52.

Santoro SW, Schultz PG. 2002. Directed evolution of the site specificity of Cre recombinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**:4185–90.

Santos SF, Zanette D, Fischer H, Itri R. 2003. A systematic study of bovine serum albumin (BSA) and sodium dodecyl sulfate (SDS) interactions by surface tension and small angle X-ray scattering. *J. Colloid Interface Sci.* **262**:400–8.

Schallmey M, Singh A, Ward O. 2004. Developments in the use of Bacillus species for industrial production. *Can. J. Microbiol.* **50**:1-17.

Scharnagl C, Reif M, Friedrich J. 2005. Stability of proteins: temperature, pressure and the

role of the solvent. *Biochim. Biophys. Acta* **1749**:187–213.

Schmid R, Verger R. 1998. Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. *Angew. Chemie Int. Ed.* **37**:1608-1633.

Schrag J, Cygler M. 1997. Lipase and alpha/beta hydrolase fold. *Methods Enzymol.* **284**:85–107.

Seddon AM, Curnow P, Booth PJ. 2004. Membrane proteins, lipids and detergents: not just a soap opera. *Biochim. Biophys. Acta* **1666**:105–17.

Semenov A. 1987. Water-organic solvent two-phase systems as media for biocatalytic reactions: the potential for shifting chemical equilibria towards higher yield of end products. *Biocatal.* **1**:3–8.

Serdakowski AL, Dordick JS. 2008. Enzyme activation for organic solvents made easy. *Trends Biotechnol.* **26**:48–54.

Shanmugaratnam S, Eisenbeis S, Höcker B. 2012. A highly stable protein chimera built from fragments of different folds. *Protein Eng. Des. Sel.* **25**:699–703.

Sharma A, Agarwal PK, Deep S. 2010. Characterization of different conformations of bovine serum albumin and their propensity to aggregate in the presence of N-cetyl-N,N,N-trimethyl ammonium bromide. *J. Colloid Interface Sci.* **343**:454–62.

Sharma R, Chisti Y, Banerjee U. 2001. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnol. Adv.* **19**:627–662.

Shendure J, Porreca GJ, Reppas NB, Lin X, McCutcheon JP, Rosenbaum AM, Wang MD, Zhang K, Mitra RD, Church GM. 2005. Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science* **309**:1728–32.

Shokralla S, Gibson JF, Nikbakht H, Janzen DH, Hallwachs W, Hajibabaei M. 2014. Next-generation DNA barcoding: using next-generation sequencing to enhance and accelerate DNA barcode capture from single specimens. *Mol. Ecol. Resour.* **14**:892-901.

Siegel JB, Zanghellini A, Lovick HM, Kiss G, Lambert AR, St Clair JL, Gallaher JL, Hilvert D, Gelb MH, Stoddard BL, Houk KN, Michael FE, Baker D. 2010. Computational design of an enzyme catalyst for a stereoselective bimolecular Diels-Alder reaction. *Science* **329**:309–13.

Simpson RJ. 2010. CTAB-PAGE. *Cold Spring Harb. Protoc.* **2010**:1–2.

Skoczinski P. 2012. Site-saturation mutagenesis of *Bacillus subtilis* lipase LipA to identify amino acids essential for secretion. Master Thesis. Heinrich Heine University Duesseldorf.

Smith P, Krohn R, Hermanson G, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* **150**:76–85.

Sriprapundh D, Vieille C, Zeikus JG. 2000. Molecular determinants of xylose isomerase thermal stability and activity: analysis of thermozymes by site-directed mutagenesis. *Protein Eng.* **13**:259–65.

Steiner K, Schwab H. 2012. Recent advances in rational approaches for enzyme engineering. *Comput. Struct. Biotechnol.* **2**: e201209010.

Steinhardt J, Stocker N. 1973. Effects of high pH and sodium dodecyl sulfate on the hidden tyrosines of human serum albumin. *Biochemistry* **12**:1789–97.

Studier FW, Moffattf BA, Moffatt B. 1986. Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes. *J. Mol. Biol.* **189**:113–30.

Sulkowski E. 1985. Purification of proteins by IMAC. *Trends Biotechnol.* **3**:1-7.

Suzuki Y, Oishi K, Nakano H, Nagayama T. 1987. A strong correlation between the increase in number of proline residues and the rise in thermostability of five *Bacillus* oligo-1, 6-glucosidases. *Appl. Microbiol.* **26**:546–51.

Szilagyi A, Kardos J, Osvath S, Barna L., Zavodszky P. 2007. Protein Folding. *Handb. Neurochem. Mol. Neurobiol. pp* 303–343.

Tan T, Lu J, Nie K, Deng L, Wang F. 2010. Biodiesel production with immobilized lipase: A review. *Biotechnol. Adv.* **28**:628–34.

Tanford C. 1968. Protein denaturation. *Adv. Protein Chem.* **23**:121-282.

Tang L, Gao H, Zhu X, Wang X, Zhou M, Jiang R. 2012. Construction of "small-intelligent" focused mutagenesis libraries using well-designed combinatorial degenerate primers. *Biotechniques* **52**:149–58.

Tantillo D, Jiangang C, Houk K. 1998. Theozymes and compuzymes: theoretical models for biological catalysis. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2**:743-50.

Todorov PD, Marinov GS, Kralchevsky P a., Denkov ND, Durbut P, Broze G, Mehreteab A. 2002. Kinetics of Triglyceride Solubilization by Micellar Solutions of Nonionic Surfactant and Triblock Copolymer. *Langmuir* **18**:7896–7905.

Tokuriki N, Stricher F, Schymkowitz J, Serrano L, Tawfik DS. 2007. The stability effects of protein mutations appear to be universally distributed. *J. Mol. Biol.* **369**:1318–32.

Towbin H, Staehelin T, Gordon J. 1992. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. 1979. *Biotechnology* **24**:145–9.

Trivedi M V, Laurence JS, Siahaan TJ. 2009. The role of thiols and disulfides on protein stability. *Curr. Protein Pept. Sci.* **10**:614–25.

Turner NJ. 2003. Directed evolution of enzymes for applied biocatalysis. *Trends Biotechnol.* **21**:474–8.

Turner NJ. 2009. Directed evolution drives the next generation of biocatalysts. *Nat. Chem. Biol.* **5**:567–73.

Turro N, Lei X. 1995. Spectroscopic probe analysis of protein-surfactant interactions: the BSA/SDS system. *Langmuir* **5**:2525–2533.

Tuteja R. 2005. Type I signal peptidase: an overview. *Arch. Biochem. Biophys.* **441**:107–11.

Urban A, Leipelt M, Eggert T, Jaeger K, Al UET. 2001. DsbA and DsbC Affect Extracellular Enzyme Formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **183**:587–596.

Vazquez-Figueroa E, Yeh V, Broering JM, Chaparro-Riggers JF, Bommarius AS. 2008. Thermostable variants constructed via the structure-guided consensus method also show increased stability in salts solutions and homogeneous aqueous-organic media. *Protein Eng. Des. Sel.* **21**:673–80.

Velev OD, Pan YH, Kaler EW, Lenhoff a. M. 2005. Molecular Effects of Anionic Surfactants on Lysozyme Precipitation and Crystallization. *Cryst. Growth Des.* **5**:351–359.

Vieille C, Zeikus G. 2001. Hyperthermophilic enzymes: sources, uses, and molecular mechanisms for thermostability. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **65**:1–43.

Villeneuve P, Muderhwa J. 2000. Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. *J. Mol. **9**:113-48.*

Vogelstein B, Gillespie D. 1979. Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **76**:615–9.

De Vries SJ, van Dijk M, Bonvin AMJJ. 2010. The HADDOCK web server for data-driven biomolecular docking. *Nat. Protoc.* **5**:883–97.

Waals J. 1873. Over de Continuiteit van den Gas-en Vloeistoftoestand. Doctoral Dissertation. University of Leiden.

Wedemeyer WWJ, Welker E, Narayan M, Scheraga HA. 2000. Disulfide bonds and protein folding. *Biochemistry* **39**:4207-16.

Wemheuer B, Taube R, Akyol P, Wemheuer F, Daniel R. 2013. Microbial diversity and biochemical potential encoded by thermal spring metagenomes derived from the Kamchatka Peninsula. *Archaea* **2013**:136714.

Westers L, Westers H, Quax WJ. 2004. *Bacillus subtilis* as cell factory for pharmaceutical proteins: a biotechnological approach to optimize the host organism. *Biochim. Biophys. Acta* **1694**:299–310.

Winkler FK, D'Arcy A, Hunziker W. 1990. Structure of human pancreatic lipase. *Nature* **343**:771–4.

Wong TS, Arnold FH, Schwaneberg U. 2004. Laboratory evolution of cytochrome p450 BM-3 monooxygenase for organic cosolvents. *Biotechnol. Bioeng.* **85**:351–8.

Woycechowsky KJ, Raines RT. 2000. Native disulfide bond formation in proteins. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **4**:533–9.

Wright HT. 1991. Nonenzymatic deamidation of asparaginyl and glutaminyl residues in proteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **26**:1–52.

Yahya ARM, Anderson WA, Moo-young M, Sp CAL. 1998. Ester synthesis in lipase-catalyzed reactions. *Enzyme Microb.Tech.* **23**:438–450.

Yedavalli P, Rao NM. 2013. Engineering the loops in a lipase for stability in DMSO. *Protein Eng. Des. Sel.* **26**:317–24.

Yun HS, Park HJ, Joo JC, Yoo YJ. 2013. Thermostabilization of *Bacillus subtilis* lipase A by minimizing the structural deformation caused by packing enhancement. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **40**:1223–9.

Zadymova NM, Yampol'skaya GP, Filatova LY. 2006. Interaction of bovine serum albumin with nonionic surfactant Tween 80 in aqueous solutions: Complexation and association. *Colloid J.* **68**:162–172.

Zaks a, Klibanov a M. 1984. Enzymatic catalysis in organic media at 100 degrees C. *Science* **224**:1249–51.

Zaks a, Klibanov a M. 1988. The effect of water on enzyme action in organic media. *J. Biol. Chem.* **263**:8017–21.

Zale S, Klibanov A. 1986. Why does ribonuclease irreversibly inactivate at high temperatures? *Biochemistry* **25**:5432–5444.

Zhang N, Suen W-C, Windsor W, Xiao L, Madison V, Zaks A. 2003. Improving tolerance of *Candida antarctica* lipase B towards irreversible thermal inactivation through directed evolution. *Protein Eng. Des. Sel.* **16**:599–605.

6. APPENDIX

6.1 Primer sequences

Table 6-1 Table of single Site Saturation Mutagenesis (SSM) primers used

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Ala1-**NNS**	gatggccatggatatcNNSgaacacaatccag	ctggattgtgttcSNNgatatccatggccatc
Glu2-NNS	ccatggatatcgctNNScacaatccagtcg	cgactggattgtgSNNagcgatatccatgg
His3-NNS	catggatatcgctgaaNNSaatccagtcgttatg	cataacgactggattSNNttcagcgatatccatg
Asn4-NNS	gatatcgctgaacacNNSccagtcgttatggtt	aaccataacgactggSNNgtgttcagcgatatc
Pro5-NNS	gatatcgctgaacacaatNNSgtcgttatggttcac	gtgaaccataacgacSNNattgtgttcagcgatatc
Val6-NNS	gctgaacacaatccaNNSgttatggttcacggt	accgtgaaccataacSNNtggattgtgttcagc
Val7-NNS	gaacacaatccagtcNNSatggttcacggtatt	aataccgtgaaccatSNNgactggattgtgttc
Met8-NNS	cacaatccagtcgttNNSgttcacggtattgga	tccaataccgtgaacSNNaacgactggattgtg
Val9-NNS	caatccagtcgttatgNNS**c**acggtattggaggg	ccctccaataccgtgSNNcataacgactggattg
His10-NNS	ccagtcgttatggttNNSggtattggaggggca	tgcccctccaataccSNNaaccataacgactgg
Gly11-NNS	gtcgttatggttcacNNSattggaggggcatca	tgatgcccctccaatSNNgtgaaccataacgac
Ile12-NNS	gttatggttcacggtNNSggaggggcatcattc	gaatgatgcccctccSNNaccgtgaaccataac
Gly13-NNS	gttatggttcacggtattNNSggggcatcattc	gaatgatgccccSNNaataccgtgaaccataac
Gly14-NNS	gttcacggtattggaNNSgcatcattcaatttt	aaaattgaatgatgcSNNtccaataccgtgaac
Ala15-NNS	cacggtattggagggNNStcattcaattttgcg	cgcaaaattgaatgaSNNccctccaataccgtg
Ser16-NNS	ggtattggaggggcaNNSttcaattttgcggga	tcccgcaaaattgaaSNNtgcccctccaatacc
Phe17-NNS	gtattggaggggcatcaNNSaattttgcgggaatt	aattcccgcaaaattSNNtgatgcccctccaatac
Asn18-NNS	ggaggggcatcattcNNStttgcgggaattaag	cttaattcccgcaaaSNNgaatgatgcccctcc
Phe19NNS	ggggcatcattcaatNNSgcgggaattaagagc	gctcttaattcccgcSNNattgaatgatgcccc
Ala20-NNS	gcatcattcaattttNNSggaattaagagc	gctcttaattccSNNaaaattgaatgatgc
Gly21-NNS	gcatcattcaattttgcgNNSattaagagctat	atagctcttaatSNNcgcaaaattgaatgatgc
Ile22-NNS	caattttgcgggaNNSaagagctatctcgta	tacgagatagctcttSNNtcccgcaaaattg
Lys23-NNS	caattttgcgggaattNNSagctatctcgtatct	agatacgagatagctSNNaattcccgcaaaattg
Ser24-NNS	gcgggaattaagNNStatctcgtatctcag	ctgagatacgagataSNNcttaattcccgc
Tyr25-NNS	gcgggaattaagagcNNSctcgtatctcagggc	gccctgagatacgagSNNgctcttaattcccgc
Leu26-NNS	ggaattaagagctatNNSgtatctcagggctgg	ccagccctgagatacSNNatagctcttaattcc
Val27-NNS	gaattaagagctatctcNNStctcagggctggtcg	cgaccagccctgagaSNNgagatagctcttaattc
Ser28-NNS	gagctatctcgtaNNScagggctggtcgcgg	ccgcgaccagccctgSNNtacgagatagctc
Gln29-NNS	agctatctcgtatctNNSggctggtcgcgggac	gtcccgcgaccagccSNNagatacgagatagct
Gly30-NNS	ctatctcgtatctcagNNStggtcgcgggacaag	cttgtcccgcgaccaSNNctgagatacgagatag
Trp31-NNS	ctcgtatctcagggcNNStcgcgggacaagctg	cagcttgtcccgcgaSNNgccctgagatacgag
Ser32-NNS	gtatctcagggctggNNScgggacaagctgtat	atacagcttgtcccgSNNccagccctgagatac
Leu36-NNS	ctggtcgcgggacaagNNStatgcagttgatttt	aaaatcaactgcataSNNcttgtcccgcgaccag
Tyr37-NNS	gtcgcgggacaagctgNNSgcagttgatttttgg	ccaaaaatcaactgcSNNcagcttgtcccgcgac
Ala38-NNS	cgggacaagctgtatNNSgttgatttttgggac	gtcccaaaaatcaacSNNatacagcttgtcccg
Val39-NNS	gacaagctgtatgcaNNSgatttttgggacaag	cttgtcccaaaaatcSNNtgcatacagcttgtc
Asp40-NNS	aagctgtatgcagttNNStttgggacaagaca	tgtcttgtcccaaaaSNNaactgcatacagctt
Phe41-NNS	ctgtatgcagttgatNNS**t**gggacaagacaggc	gcctgtcttgtcccaSNNatcaactgcatacag
Trp42-NNS	tatgcagttgattttNNSgacaagacaggcaca	tgtgcctgtcttgtcSNNaaaatcaactgcata
Asp43-NNS	gcagttgatttttggNNSaagacaggcacaaat	atttgtgcctgtcttSNNccaaaaatcaactgc

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Lys44-NNS	gttgatttttgggacNNSacaggcacaaattat	ataatttgtgcctgtSNNgtcccaaaaatcaac
Thr45-NNS	gatttttgggacaagNNSggcacaaattataac	gttataatttgtgccSNNcttgtcccaaaaatc
Gly46-NNS	gatttttgggacaagacaNNSacaaattataacaat	attgttataatttgtSNNtgtcttgtcccaaaaatc
Thr47-NNS	gatttttgggacaagacaggcNNSaattataacaatgga	tccattgttataattSNNgcctgtcttgtcccaaaaatc
Asn48-NNS	gacaagacaggcacaNNStataacaatggaccg	cggtccattgttataSNNtgtgcctgtcttgtc
Tyr49-NNS	aagacaggcacaaatNNSaacaatggaccggta	taccggtccattgttSNNatttgtgcctgtctt
Asn50-NNS	acaggcacaaattatNNSaatggaccggtatta	taataccggtccattSNNataatttgtgcctgt
Asn51-NNS	ggcacaaattataacNNSggaccggtattatca	tgataataccggtccSNNgttataatttgtgcc
Gly52-NNS	cacaaattataacaatNNSccggtattatcacga	tcgtgataataccggSNNattgttataatttgtg
Pro53-NNS	aattataacaatggaNNSgtattatcacgattt	aaatcgtgataatacSNNtccattgttataatt
Val54-NNS	tataacaatggaccgNNSttatcacgatttgtg	cacaaatcgtgataaSNNcggtccattgttata
Leu55-NNS	caatggaccggtaNNStcacgatttgtgcaa	ttgcacaaatcgtgaSNNtaccggtccattg
Ser56-NNS	caatggaccggtattaNNScgatttgtgcaaaag	cttttgcacaaatcgSNNtaataccggtccattg
Arg57-NNS	ggaccggtattatcaNNStttgtgcaaaaggtt	aacctttttgcacaaaSNNtgataataccggtcc
Phe58-NNS	ccggtattatcacgaNNSgtgcaaaaggtttta	taaaacctttgcacSNNtcgtgataataccgg
Val59-NNS	gtattatcacgatttNNScaaaaggttttagat	atctaaaaccttttgSNNaaatcgtgataatac
Gln60-NNS	ttatc**ac**gatttgtgNNSaaggttttagatgaa	ttcatctaaaaccttSNNcacaaatcgtgataa
Lys61-NNS	cacgatttgtgcaaNNSgttttagatg**a**aaacg	cgtttcatctaaaacSNNttgcacaaatcgtg
Val62-NNS	cgatttgtgcaaaagNNSttagatgaaacgggt	acccgtttcatctaaSNNcttttgcacaaatcg
Leu63-NNS	gatttgtgcaaaaggttNNSgatgaaacgggtgcg	cgcacccgtttcatcSNNaacctttttgcacaaatc
Asp64-NNS	gtgcaaaaggttttaNNSgaaacgggtgcgaaa	tttcgcacccgtttcSNNtaaaacctttttgcac
Glu65-NNS	caaaaggttttagatNNSacgggtgcgaaaaaa	ttttttcgcacccgtSNNatctaaaacctttttg
Thr66-NNS	ggttttagatgaaNNSggtgcgaaaaaagtg	cacttttttcgcaccSNNttcatctaaaacc
Gly67-NNS	gttttagatgaaacgNNSgcgaaaaaagtggat	atccacttttttcgcSNNcgtttcatctaaaac
Lys69-NNS	gatgaaacgggtgcgNNSaaagtggatattgtc	gacaatatccactttSNNcgcacccgtttcatc
Lys70-NNS	gaaacgggtgcgaaaNNSgtggatattgtcgct	agcgacaatatccacSNNtttcgcacccgtttc
Asp72-NNS	ggtgcgaaaaaagtgNNSattgtcgctcacagc	gctgtgagcgacaatSNNcacttttttcgcacc
Ile73-NNS	gcgaaaaaagtggatNNSgtcgctcacagcatg	catgctgtgagcgacSNNatccacttttttcgc
Val74-NNS	gaaaaaagtggatattNNSgctcacagcatgggg	ccccatgctgtgagcSNNaatatccacttttttc
Ala75-NNS	gaaaaaagtggatattgtcNNScacagcatgggggc	gccccccatgctgtgSNNgacaatatccacttttttc
His76-NNS	gtggatattgtcgctNNSagcatgggggcgcg	cgcgccccccatgctSNNagcgacaatatccac
Ser77-NNS	gatattgtcgctcacNNSatgggggcgcgaac	gttcgcgccccccatSNNgtgagcgacaatatc
Met78-NNS	gatattgtcgctcacagcNNSgggggcgcgaacaca	tgtgttcgcgcccccSNNgctgtgagcgacaatatc
Gly79-NNS	gtcgctcacagcatgNNSggcgcgaacacactt	aagtgtgttcgcgccSNNcatgctgtgagcgac
Gly80-NNS	gctcacagcatggggNNSgcgaacacactttac	gtaaagtgtgttcgcSNNccccatgctgtgagc
Ala81-NNS	cacagcatgggggcNNSaacacactttactac	gtagtaaagtgtgttSNNgccccccatgctgtg
Asn82-NNS	cagcatgggggcgcgNNSacactttactacata	tatgtagtaaagtgtSNNcgcgccccccatgctg
Thr83-NNS	catgggggcgcgaacNNSctttactacataaaa	ttttatgtagtaaagSNNgttcgcgcccccatg
Leu84-NNS	gggggcgcgaacacaNNStactacataaaaaat	atttttatgtagtaSNNtgtgttcgcgccccc
Tyr85-NNS	ggcgcgaacacacttNNStacataaaaaatctg	cagatttttatgtaSNNaagtgtgttcgcgcc
Tyr86-NNS	gcgaacacactttacNNSataaaaaatctggac	gtccagatttttatSNNgtaaagtgtgttcgc
Ile87-NNS	gaacacactttactacNNSaaaaatctggacggc	gccgtccagattttSNNgtagtaaagtgtgttc
Lys88-NNS	cacactttactacataNNSaatctggacggcgga	tccgccgtccagattSNNtatgtagtaaagtgtg
Asn89-NNS	ctttactacataaaaNNSctggacggcggaaat	atttccgccgtccagSNNttttatgtagtaaag
Leu90-NNS	ctttactacataaaaaatNNSgacggcggaaataaa	tttatttccgccgtcSNNatttttttatgtagtaaag
Asp91-NNS	ctacataaaaaatctgNNSggcggaaataaagtt	aactttatttccgccSNNcagatttttttatgtag
Gly92-NNS	tgcaactttatttccSNNgtccagatttttatg	cataaaaaatctggacNNSggaaataaagttgca
Gly93-NNS	gtttgcaactttattSNNgccgtccagatttttatg	cataaaaaatctggacggcNNSaataaagttgcaaac
Asn94-NNS	gacgtttgcaactttSNNtccgccgtccagatttttatg	taaaaaatctggacggcggaNNSaaagttgcaaacgtc

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Lys95-NNS	cacgacgtttgcaacSNNatttccgccgtccag	ctggacggcggaaatNNSgttgcaaacgtcgtg
Val96-NNS	cgtcacgacgtttgcSNNtttatttccgccgtc	gacggcggaaataaaNNSgcaaacgtcgtgacg
Ala97-NNS	aagcgtcacgacgttSNNaactttattcctgcc	ggcaggaataaagttNNSaacgtcgtgacgctt
Asn98-NNS	gccaagcgtcacgacSNNtgcaactttatttcc	ggaaataaagttgcaNNSgtcgtgacgcttggc
Val99-NNS	gccgccaagcgtcacSNNgtttgcaactttatttc	gaaataaagttgcaaacNNSgtgacgcttggcggc
Val100-NNS	cgcgccgccaagcgtSNNgacgtttgcaac	gttgcaaacgtcNNSacgcttggcggcgcg
Thr101-NNS	gttcgcgccgccaagSNNcacgacgtttgcaac	gttgcaaacgtcgtgNNScttggcggcgcgaac
Leu102-NNS	acggttcgcgccgccSNNcgtcacgacgtttgc	gcaaacgtcgtgacgNNSggcggcgcgaaccgt
Gly103-NNS	taaacggttcgcgccSNNaagcgtcacgacgtt	aacgtcgtgacgcttNNSggcgcgaaccgttta
Gly104-NNS	cgttaaacggttcgcSNNgccaagcgtcacgac	gtcgtgacgcttggcNNSgcgaaccgtttaacg
Ala105-NNS	tgtcgttaaacggttSNNgccgccaagcgtcac	gtgacgcttggcggcNNSaaccgtttaacgaca
Asn106-NNS	ggcggcgcgNNScgtttgacgacaggc	caaacgSNNcgcgccgccaagcgtcacgac
Arg107-NNS	cttggcggcgcgaacNNSttgacgacaggcaag	cttgcctgtcgtcaaSNNgttcgcgccgccaag
Leu108-NNS	cgccttgcctgtcgtSNNacggttcgcgccgcc	ggcggcgcgaaccgtNNSacgacaggcaaggcg
Thr109-NNS	aagcgccttgcctgtSNNcaaacggttcgcgcc	ggcgcgaaccgtttgNNSacaggcaaggcgctt
Thr110-NNS	gcgaaccgtttgacgNNSggcaaggcgcttccg	cggaagcgccttgccSNNcgtcaaacggttcgc
Gly111-NNS	gaaccgtttgacgacaNNSaaggcgcttccggg	cccggaagcgccttSNNtgtcgtcaaacggttc
Lys112-NNS	tgttccccgaagcgcSNNgcctgtcgtcaaacg	cgtttgacgacaggcNNSgcgcttcggggaaca
Ala113-NNS	atctgttcccggaagSNNcttgcctgtcgttaaac	gtttaacgacaggcaagNNScttccgggaacagat
Leu114-NNS	tggatctgttcccggSNNcgccttgcctgtcg	cgacaggcaaggcgNNSccgggaacagatcca
Pro115-NNS	atttggatctgttccSNNaagcgccttgcctgtc	gacaggcaaggcgcttNNSggaacagatccaaat
Gly116-NNS	ttgatttggatctgtSNNcggaagcgccttgcc	ggcaaggcgcttccgNNSacagatccaaatcaa
Thr117-NNS	cttttgatttggatcSNNtcccggaagcgccttg	caaggcgcttccgggaNNSgatccaaatcaaaag
Asp118-NNS	aatcttttgatttggSNNtgttcccggaagcgc	gcgcttccgggaacaNNSccaaatcaaaagatt
Pro119-NNS	taaaatcttttgattSNNatctgttcccggaag	cttccgggaacagatNNSaatcaaaagatttta
Asn120-NNS	ccgggaacagatccaNNScaaaagattttatac	gtataaaatcttttgSNNtggatctgttcccgg
Gln121-NNS	tgtgtataaaatcttSNNatttggatctgttcc	ggaacagatccaaatNNSaagattttatacaca
Lys122-NNS	ggatgtgtataaaatSNNttgatttggatctg	cagatccaaatcaaNNSattttatacacatcc
Ile123-NNS	aatggatgtgtataaSNNcttttgatttggatc	gatccaaatcaaaagNNSttatacacatccatt
Leu124-NNS	ccaaatcaaaagattNNStacacatccatttac	gtaaatggatgtgtaSNNaatcttttgatttgg
Tyr125-NNS	gctgtaaatggatgtSNNtaaaatcttttgatttg	caaatcaaaagattttaNNSacatccatttacagc
Thr126-NNS	actgctgtaaatggaSNNgtataaaatcttttg	caaaagattttatacNNStccatttacagcagt
Ser127-NNS	ggcactgctgtaaatSNNtgtgtataaaatctt	aagattttatacacaNNSatttacagcagtgcc
Ile128-NNS	atcggcactgctgtaSNNggatgtgtataaaatc	gattttatacacatccNNStacagcagtgccgat
Tyr129-NNS	catatcggcactgctSNNaatggatgtgtataaaatc	gattttatacacatccattNNSagcagtgccgatatg
Ser130-NNS	aatcatatcggcactSNNgtaaatggatgtg	cacatccatttacNNSagtgccgatatgatt
Ser131-NNS	acatccatttacagcNNSgccgatatgattgtc	gacaatcatatcggcSNNgctgtaaatggatgt
Ala132-NNS	catgacaatcatatcSNNactgctgtaaatgg	ccatttacagcagtNNSgatatgattgtcatg
Asp133-NNS	attcatgacaatcatSNNggcactgctgtaaatg	catttacagcagtgccNNSatgattgtcatgaat
Met134-NNS	gtaattcatgacaatSNNatcggcactgctgtaaatg	catttacagcagtgccgatNNSattgtcatgaattac
Ile135-NNS	taagtaattcatgacSNNcatatcggcactgctg	cagcagtgccgatatgNNSgtcatgaattactta
Val136-NNS	tgataagtaattcatSNNaatcatatcggcactg	cagtgccgatatgattNNSatgaattacttatca
Met137-NNS	tcttgataagtaattSNNgacaatcatatcggc	gccgatatgattgtcNNSaattacttatcaaga
Asn138-NNS	taatcttgataagtaSNNcatgacaatcatatc	gatatgattgtcatgNNStacttatcaagatta
Tyr139-NNS	atctaatcttgataaSNNattcatgacaatcatatcggc	gccgatatgattgtcatgaatNNSttatcaagattagat
Leu140-NNS	accatctaatcttgaSNNgtaattcatgacaatc	gattgtcatgaattacNNStcaagattagatggt
Ser141-NNS	agcaccatctaatctSNNtaagtaattcatgac	gtcatgaattacttaNNSagattagatggtgct
Arg142-NNS	tctagcaccatctaaSNNtgataagtaattcatg	catgaattacttatcaNNSttagatggtgctaga
Leu143-NNS	gtttctagcaccatcSNNtcttgataagtaattc	gaattacttatcaagaNNSgatggtgctagaaac

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Asp144-NNS	aacgtttctagcaccSNNtaatcttgataagtaatt	aattacttatcaagattaNNSggtgctagaaacgtt
Gly145-NNS	ttgaacgtttctagcSNNatctaatcttgataag	cttatcaagattagatNNSgctagaaacgttcaa
Ala146-NNS	tcaagattagatggtNNSagaaacgttcaaatc	gatttgaacgtttctSNNaccatctaatcttga
Arg147-NNS	atggatttgaacgttSNNagcaccatctaatcttg	caagattagatggtgctNNSaacgttcaaatccat
Asn148-NNS	gccatggatttgaacSNNtctagcaccatctaatc	gattagatggtgctagaNNSgttcaaatccatggc
Val149-NNS	aacgccatcgatttgSNNgtttctagcaccatc	gatggtgctagaaacNNScaaatcgatggcgtt
Gln150-NNS	tccaacgccatggatSNNaacgtttctagcacc	ggtgctagaaacgttNNSatccatggcgttgga
Ile151-NNS	gtgtccaacgccatgSNNttgaacgtttctagc	gctagaaacgttcaaNNScatggcgttggacac
His152-NNS	gatgtgtccaacgccSNNgatttgaacgtttctag	ctagaaacgttcaaatcNNSggcgttggacacatc
Gly153-NNS	gccgatgtgtccaacSNNatggatttgaacgtttc	gaaacgttcaaatccatNNSgttggacacatcggc
Val154-NNS	aaggccgatgtgtccSNNgccatggatttgaac	gttcaaatccatggcNNSggacacatcggcctt
Gly155-NNS	cagaaggccgatgtgSNNaacgccatggatttg	caaatccatggcgttNNScacatcggccttctg
His156-NNS	gtacagaaggccgatSNNtccaacgccatggatttg	caaatccatggcgttggaNNSatcggccttctgtac
Ile157-NNS	gctgtacagaaggccSNNgtgtccaacgccatg	catggcgttggacacNNSggccttctgtacagc
Gly158-NNS	gctgctgtacagaagSNNgatgtgtccaacgcc	ggcgttggacacatcNNScttctgtacagcagc
Leu159-NNS	ttggctgctgtacagSNNgccgatgtgtccaac	gttggacacatcggcNNSctgtacagcagccaa
Leu160-NNS	gacttggctgctgtaSNNaaggccgatgtgtcc	ggacacatcggccttNNStacagcagccaagtc
Tyr161-NNS	gttgacttggctgctSNNcagaaggccgatgtg	cacatcggccttctgNNSagcagccaagtcaac
Ser162-NNS	gctgttgacttggctSNNgtacagaaggccgatg	catcggccttctgtacNNSagccaagtcaacagc
Ser163-NNS	caggctgttgacttgSNNgctgtacagaaggcc	ggccttctgtacagcNNScaagtcaacagcctg
Gln164-NNS	aatcaggctgttgacSNNgctgctgtacagaag	cttctgtacagcagcNNSgtcaacagcctgatt
Val165-NNS	tttaatcaggctgttSNNttggctgctgtacag	ctgtacagcagccaaNNSaacagcctgattaaa
Asn166-NNS	ttctttaatcaggctSNNgacttggctgctgtac	gtacagcagccaagtcNNSagcctgattaaagaa
Ser167-NNS	ccctcctttaatcagSNNgttgacttggctgctg	cagcagccaagtcaacNNSctgattaaaggaggg
Leu168-NNS	cagcccttctttaatSNNgctgttgacttggctgctg	cagcagccaagtcaacagcNNSattaaagaagggctg
Ile169-NNS	gttcagcccttctttSNNcaggctgttgacttg	caagtcaacagcctgNNSaaagaagggctgaac
Lys170-NNS	gccgttcagcccttcSNNaatcaggctgttgac	gtcaacagcctgattNNSgaagggctgaacggc
Glu171-NNS	cccgccgttcagcccSNNtttaatcaggctgtt	aacagcctgattaaaNNSgggctgaacggcggg
Gly172-NNS	agcctgattaaagaaNNSctgaacggcgggggc	gcccccgccgttcagSNNttctttaatcaggct
Leu173-NNS	ctgattaaagaagggNNSaacggcgggggccag	ctggcccccgccgttSNNcccttctttaatcag
Asn174-NNS	aatcaggctgttgacSNNgctgctgtacagaag	gaagggctgNNSggcgggggcgagaatacgaat
Gly175-NNS	aaagaagggctgaacNNSgggggccagaatacg	cgtattctggcccccSNNgttcagcccttcttt
Gly176-NNS	gaagggctgaacggcNNSggccagaatacgaat	attcgtattctggccSNNgccgttcagcccttc
Gly177-NNS	gggctgaacggcgggNNScagaatacgaattaa	ttaattcgtattctgSNNcccgccgttcagccc
Gln178-NNS	gcttgtcgacggagctctcattaattcgtattSNNgcc	ggcNNSaatacgaattaatgagagctccgtcgacaagc
Asn179-NNS	gcttgtcgacggagctctcattaattcgtSNNctc	gagNNSacgaattaatgagagctccgtcgacaagc
Thr180-NNS	ggcgggggccagaatNNSaattaatgagagctc	gagctctcattaattSNNattctggcccccgcc
Asn181-NNS	gcttgtcgacggagctctcattaSNNcgt	acgNNStaatgagagctccgtcgacaagc

Table 6-2 List of Site directed mutagenesis primers (SDM) primers

Primer name	Forward primer	Reverse primer
ala1phe	gatggccatggatatctttgaacacaatccag	ctggattgtgttcaaagatatccatggccatc
Ala1Asp	gatggccatggatatcgatgaacacaatccag	ctggattgtgttcatcgatatccatggccatc
Glu2Lys	ccatggatatcgctaaacacaatccagtcg	cgactggattgtgtttagcgatatccatgg
Gly2Tyr	ccatggatatcgcttatcacaatccagtcg	cgactggattgtgataagcgatatccatgg
Glu2Gln	ccatggatatcgctcagcacaatccagtcg	cgactggattgtgctgagcgatatccatgg
Glu2Cys	ccatggatatcgcttgccacaatccagtcg	cgactggattgtggcaagcgatatccatgg
His3Lys	catggatatcgctgaaaagaatccagtcgttatg	cataacgactggattcttttcagcgatatccatg

Primer name	Forward primer	Reverse primer
His3Met	catggatatcgctgaaatgaatccagtcgttatg	cataacgactggattcatttcagcgatatccatg
His3Gln	catggatatcgctgaacagaatccagtcgttatg	cataacgactggattctgttcagcgatatccatg
His3Cys	catggatatcgctgaatgcaatccagtcgttatg	cataacgactggattgcattcagcgatatccatg
Asn4Phe	gatatcgctgaacactttccagtcgttatggtt	aaccataacgactggaaagtgttcagcgatatc
Val6Lys	gctgaacacaatccaaaagttatggttcacggt	accgtgaaccataacttttggattgtgttcagc
Val6Ile	gctgaacacaatccaattgttatggttcacggt	accgtgaaccataacaattggattgtgttcagc
Met8Lys	cacaatccagtcgttaaggttcacggtattgga	tccaataccgtgaaccttaacgactggattgtg
Met8Phe	cacaatccagtcgtttttgttcacggtattgga	tccaataccgtgaacaaaaacgactggattgtg
Val9Glu	caatccagtcgttatggaacacggtattggaggg	ccctccaataccgtgttccataacgactggattg
Val9His	caatccagtcgttatgcaccacggtattggaggg	ccctccaataccgtggtgcataacgactggattg
Val9Met	caatccagtcgttatgatgcacggtattggaggg	ccctccaataccgtgcatcataacgactggattg
Val9Trp	caatccagtcgttatgtggcacggtattggaggg	ccctccaataccgtgccacataacgactggattg
Gly11Asp	gtcgttatggttcacgatattggaggggcatca	tgatgcccctccaatatcgtgaaccataacgac
Ile12Glu	gttatggttcacggtgaaggaggggcatcattc	gaatgatgcccctccttcaccgtgaaccataac
Ile12His	gttatggttcacggtcacggaggggcatcattc	gaatgatgcccctccgtgaccgtgaaccataac
Gly14Ile	gttcacggtattggaattgcatcattcaatttt	aaaattgaatgatgcaattccaataccgtgaac
Gly14Tyr	gttcacggtattggatatgcatcattcaatttt	aaaattgaatgatgcatatccaataccgtgaac
Gly14Ser	gttcacggtattggaagcgcatcattcaatttt	aaaattgaatgatgcgcttccaataccgtgaac
Gly14Cys	gttcacggtattggatgcgcatcattcaatttt	aaaattgaatgatgcgcatccaataccgtgaac
Ala15Ile	cacggtattggagggatttcattcaattttgcg	cgcaaaattgaatgaaatccctccaataccgtg
Ser16His	ggtattggaggggcacacttcaattttgcggga	tcccgcaaaattgaagtgtgcccctccaatacc
Ser16Ile	ggtattggaggggcaattttcaattttgcggga	tcccgcaaaattgaaaattgcccctccaatacc
Ser16Phe	ggtattggaggggcatttttcaattttgcggga	tcccgcaaaattgaaaaatgcccctccaatacc
Asn18Trp	ggaggggcatcattctggtttgcgggaattaag	cttaattcccgcaaaccagaatgatgcccctcc
Phe19Lys	ggggcatcattcaataaggcgggaattaagagc	gctcttaattcccgccttattgaatgatgcccc
Phe19Ile	ggggcatcattcaatattgcgggaattaagagc	gctcttaattcccgcaatattgaatgatgcccc
Phe19Gln	ggggcatcattcaatcaggcgggaattaagagc	gctcttaattcccgcctgattgaatgatgcccc
Ala20-Met	gcatcattcaattttatgggaattaagagc	gctcttaattcccataaaattgaatgatgc
Ala20-Phe	gcatcattcaatttttttggaattaagagc	gctcttaattccaaaaaaattgaatgatgc
Gly21Asp	gcatcattcaattttgcggatattaagagctat	atagctcttaatatccgcaaaattgaatgatgc
Gly21Phe	gcatcattcaattttgcgtttattaagagctat	atagctcttaataaacgcaaaattgaatgatgc
Gly21Gln	gcatcattcaattttgcgcagattaagagctat	atagctcttaatctgcgcaaaattgaatgatgc
Lys23-Asp	caattttgcgggaattgatagctatctcgtatct	agatacgagatagctatcaattcccgcaaaattg
Ser24-Met	gcgggaattaagatgtatctcgtatctcag	ctgagatacgagatacatcttaattcccgc
Ser24Ile	gcgggaattaagatttatctcgtatctcag	ctgagatacgagataaatcttaattcccgc
Ser24Phe	gcgggaattaagttttatctcgtatctcag	ctgagatacgagataaaacttaattcccgc
Ser24Cys	gcgggaattaagtgctatctcgtatctcag	ctgagatacgagatagcacttaattcccgc
Tyr25Asp	gcgggaattaagagcgatctcgtatctcagggc	gccctgagatacgagatcgctcttaattcccgc
Leu26Ile	ggaattaagagctatattgtatctcagggctgg	ccagccctgagatacaatatagctcttaattcc
Leu26Tyr	ggaattaagagctattatgtatctcagggctgg	ccagccctgagatacataatagctcttaattcc
Leu26Trp	ggaattaagagctattgggtatctcagggctgg	ccagccctgagatacccaatagctcttaattcc
Val27Asp	gaattaagagctatctcgattctcagggctggtcg	cgaccagccctgagaatcgagatagctcttaattc
Val27Ile	gaattaagagctatctcatttctcagggctggtcg	cgaccagccctgagaaatgagatagctcttaattc
Val27Tyr	gaattaagagctatctctattctcagggctggtcg	cgaccagccctgagaatagagatagctcttaattc
Ser28Asp	gagctatctcgtagatcagggctggtcgcgg	ccgcgaccagccctgatctacgagatagctc
Ser28His	gagctatctcgtacaccagggctggtcgcgg	ccgcgaccagccctggtgtacgagatagctc
Ser28Trp	gagctatctcgtatggcagggctggtcgcgg	ccgcgaccagccctgccatacgagatagctc
Gly29His	agctatctcgtatctcacggctggtcgcgggac	gtcccgcgaccagccgtgagatacgagatagct
Gly29Phe	agctatctcgtatcttttggctggtcgcgggac	gtcccgcgaccagccaaaagatacgagatagct

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Gly30His	ctatctcgtatctcagcactggtcgcgggacaag	cttgtcccgcgaccagtgctgagatacgagatag
Trp31Tyr	ctcgtatctcagggctattcgcgggacaagctg	cagcttgtcccgcgaatagccctgagatacgag
Trp31-Ile	ctcgtatctcagggcatttcgcgggacaagctg	cagcttgtcccgcgaaatgccctgagatacgag
Trp31-His	ctcgtatctcagggccactcgcgggacaagctg	cagcttgtcccgcgagtggccctgagatacgag
Trp31-Cys	ctcgtatctcagggctgctcgcgggacaagctg	cagcttgtcccgcgagcagccctgagatacgag
Trp31-Pro	ctcgtatctcagggcccgtcgcgggacaagctg	cagcttgtcccgcgacgggccctgagatacgag
Ser32Trp	gtatctcagggctggtggcgggacaagctgtat	atacagcttgtcccgccaccagccctgagatac
Ser32Gln	gtatctcagggctggcagcgggacaagctgtat	atacagcttgtcccgctgccagccctgagatac
Leu36His	ctggtcgcgggacaagcactatgcagttgatttt	aaaatcaactgcatagtgcttgtcccgcgaccag
Leu36Met	ctggtcgcgggacaagatgtatgcagttgatttt	aaaatcaactgcatacatcttgtcccgcgaccag
Tyr37His	gtcgcgggacaagctgcacgcagttgatttttgg	ccaaaaatcaactgcgtgcagcttgtcccgcgac
Tyr37Met	gtcgcgggacaagctgatggcagttgatttttgg	ccaaaaatcaactgccatcagcttgtcccgcgac
Tyr37Gln	gtcgcgggacaagctgcaggcagttgatttttgg	ccaaaaatcaactgcctgcagcttgtcccgcgac
Ala38Asp	cgggacaagctgtatgatgttgatttttgggac	gtcccaaaaatcaacatcatacagcttgtcccg
Ala38Arg	cgggacaagctgtatcgggttgatttttgggac	gtcccaaaaatcaacccgatacagcttgtcccg
Val39Cys	gacaagctgtatgcatgcgatttttgggacaag	cttgtcccaaaaatcgcatgcatacagcttgtc
Asp40Tyr	aagctgtatgcagtttatttttgggacaagaca	tgtcttgtcccaaaaataaactgcatacagctt
Asp40Ile	aagctgtatgcagttatttttgggacaagaca	tgtcttgtcccaaaaaataactgcatacagctt
Phy41Val	ctgtatgcagttgatgtttgggacaagacaggc	gcctgtcttgtcccaaacatcaactgcatacag
Trp42Asp	tatgcagttgattttgatgacaagacaggcaca	tgtgcctgtcttgtcatcaaaatcaactgcata
Trp42Glu	tatgcagttgattttgaagacaagacaggcaca	tgtgcctgtcttgtcttcaaaatcaactgcata
Trp42Ala	tatgcagttgattttgcggacaagacaggcaca	tgtgcctgtcttgtccgcaaaatcaactgcata
Trp42Gln	tatgcagttgattttcaggacaagacaggcaca	tgtgcctgtcttgtcctgaaaatcaactgcata
Asp43-Gln	gcagttgatttttggcagaagacaggcacaaat	atttgtgcctgtcttctgccaaaaatcaactgc
Lys44-Asp	gttgatttttgggacgatacaggcacaaattat	ataatttgtgcctgtatcgtcccaaaaatcaac
Lys44-Glu	gttgatttttgggacgaaacaggcacaaattat	ataatttgtgcctgtttcgtcccaaaaatcaac
Lys44-Ile	gttgatttttgggacattacaggcacaaattat	ataatttgtgcctgtaatgtcccaaaaatcaac
Lys44-Tyr	gttgatttttgggactatacaggcacaaattat	ataatttgtgcctgtatagtcccaaaaatcaac
Thr45Ile	gatttttgggacaagattggcacaaattataac	gttataatttgtgccaatcttgtcccaaaaatc
Thr47Asp	gatttttgggacaagacaggcgataattataacaatgga	tccattgttataattatcgcctgtcttgtcccaaaaatc
fwThr47Ala	gatttttgggacaagacaggcgcgaattataacaatgga	tccattgttataattcgcgcctgtcttgtcccaaaaatc
Thr47Gln	gatttttgggacaagacaggccagaattataacaatgga	tccattgttataattctggcctgtcttgtcccaaaaatc
Thr47-Ile	gatttttgggacaagacaggcattaattataacaatgga	tccattgttataattaatgcctgtcttgtcccaaaaatc
Asn50Met	acaggcacaaattatatgaatggaccggtatta	taataccggtccattcatataatttgtgcctgt
Asn51Asp	ggcacaaattataacgatggaccggtattatca	tgataataccggtccatcgttataatttgtgcc
Asn51Cys	ggcacaaattataactgcggaccggtattatca	tgataataccggtccgcagttataatttgtgcc
Gly52Met	cacaaattataacaatatgccggtattatcacga	tcgtgataataccggcatattgttataatttgtg
Gly52Asn	cacaaattataacaataatccggtattatcacga	tcgtgataataccggattattgttataatttgtg
Gly52Cys	cacaaattataacaattgcccggtattatcacga	tcgtgataataccgggcaattgttataatttgtg
Pro53Ile	acaaattataacaatggaattgtattatcacgatttgtg	cacaaatcgtgataatacaattccattgttataatttgt
Val54Ile	tataacaatggaccgattttatcacgatttgtg	cacaaatcgtgataaaatcggtccattgttata
Leu55Asp	caatggaccggtagattcacgatttgtgcaa	ttgcacaaatcgtgaatctaccggtccattg
Leu55Ile	caatggaccggtaatttcacgatttgtgcaa	ttgcacaaatcgtgaaattaccggtccattg
Leu55Met	caatggaccggtaatgtcacgatttgtgcaa	ttgcacaaatcgtgacattaccggtccattg
Arg57-Met	ggaccggtattatcaatgtttgtgcaaaaggtt	aacctttgcacaaacattgataatacggtcc
Arg57-Trp	ggaccggtattatcatggtttgtgcaaaaggtt	aacctttgcacaaaccatgataatacggtcc
Phe58-Asp	ccggtattatcacgagatgtgcaaaaggtttta	taaaaccttttgcacatctcgtgataatacgg
Phe58-Ala	ccggtattatcacgagcggtgcaaaaggtttta	taaaaccttttgcaccgctcgtgataatacgg
Phe58-Gln	ccggtattatcacgacaggtgcaaaaggtttta	taaaaccttttgcacctgtcgtgataatacgg
Val59Asp	gtattatcacgatttgatcaaaaggttttagat	atctaaaaccttttgatcaaatcgtgataatac
Val59Tyr	gtattatcacgattttatcaaaaggttttagat	atctaaaaccttttgataaaatcgtgataatac
Gly60Asp	ttatcacgatttgtggataaggttttagatgaa	ttcatctaaaaccttatccacaaatcgtgataa

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Lys61Ile	cacgatttgtgcaaattgttttagatgaaacg	cgtttcatctaaaacaatttgcacaaatcgtg
Val62Asp	cgatttgtgcaaaaggatttagatgaaacgggt	acccgtttcatctaaatccttttgcacaaatcg
Val62Trp	cgatttgtgcaaaagtggttagatgaaacgggt	acccgtttcatctaaccacttttgcacaaatcg
Val62Cys	cgatttgtgcaaaagtgcttagatgaaacgggt	acccgtttcatctaagcacttttgcacaaatcg
Leu63Ile	gatttgtgcaaaaggttattgatgaaacgggtgcg	cgcacccgtttcatcaataacctttttgcacaaatc
Leu63Gln	gatttgtgcaaaaggttcaggatgaaacgggtgcg	cgcacccgtttcatcctgaacctttttgcacaaatc
Asp64Ile	gtgcaaaaggttttaattgaaacgggtgcgaaa	tttcgcacccgtttcaattaaaacctttttgcac
Glu65Asp	caaaaggttttagatgatacgggtgcgaaaaaa	ttttttcgcacccgtatcatctaaaacctttttg
Glu65Tyr	caaaaggttttagattatacgggtgcgaaaaaa	ttttttcgcacccgtataatctaaaacctttttg
Thr66Asp	ggttttagatgaagatggtgcgaaaaaagtg	cacttttttcgcaccatcttcatctaaaacc
Thr66Cys	ggttttagatgaatgcggtgcgaaaaaagtg	cacttttttcgcaccgcattcatctaaaacc
Gly67Asp	gttttagatgaaacggatgcgaaaaaagtggat	atccacttttttcgcatccgtttcatctaaaac
Gly67Gln	gttttagatgaaacgcaggcgaaaaaagtggat	atccacttttttcgcctgcgtttcatctaaaac
Ala68-Lys	agatgaaacgggtaagaaaaaagtggatattgtcgc	gcgacaatatccacttttttcttacccgtttcatct
Ala68-Met	agatgaaacgggtatgaaaaaagtggatattgtcgc	gcgacaatatccacttttttcatacccgtttcatct
Lys69Trp	gatgaaacgggtgcgtggaaagtggatattgtc	gacaatatccactttccacgcacccgtttcatc
Lys69Cys	gatgaaacgggtgcgtgcaaagtggatattgtc	gacaatatccactttgcacgcacccgtttcatc
Lys70-Asp	gaaacgggtgcgaaagatgtggatattgtcgct	agcgacaatatccacatctttcgcacccgtttc
Lys70-Ile	gaaacgggtgcgaaaattgtggatattgtcgct	agcgacaatatccacaattttcgcacccgtttc
Lys70-Met	gaaacgggtgcgaaaatggtggatattgtcgct	agcgacaatatccaccattttcgcacccgtttc
Val71-Asp	cgggtgcgaaaaaagatgatattgtcgctcacag	ctgtgagcgacaatatcatctttttcgcacccg
His76Gln	gtggatattgtcgctcagagcatgggggcgcg	cgcgccccccatgctctgagcgacaatatccac
Ser77-His	gatattgtcgctcaccacatgggggcgcgaac	gttcgcgccccccatgtggtgagcgacaatatc
Ser77-Tyr	gatattgtcgctcactatatgggggcgcgaac	gttcgcgccccccatatagtgagcgacaatatc
Ser77-Cys	gatattgtcgctcactgcatgggggcgcgaac	gttcgcgccccccatgcagtgagcgacaatatc
Met78Trp	gatattgtcgctcacagctgggggggcgcgaacaca	tgtgttcgcgcccccccagctgtgagcgacaatatc
Met78Cys	gatattgtcgctcacagctgcgggggcgcgaacaca	tgtgttcgcgcccccgcagctgtgagcgacaatatc
Gly79Asp	gtcgctcacagcatggatggcgcgaacacactt	aagtgtgttcgcgccatccatgctgtgagcgac
Gly79His	gtcgctcacagcatgcacggcgcgaacacactt	aagtgtgttcgcgccgtgcatgctgtgagcgac
Gly79Ile	gtcgctcacagcatgattggcgcgaacacactt	aagtgtgttcgcgccaatcatgctgtgagcgac
Gly79Trp	gtcgctcacagcatgtggggcgcgaacacactt	aagtgtgttcgcgccccacatgctgtgagcgac
Gly80Glu	gctcacagcatgggggaagcgaacacactttac	gtaaagtgtgttcgcttcccccatgctgtgagc
Gly80Ile	gctcacagcatggggattgcgaacacactttac	gtaaagtgtgttcgcaatccccatgctgtgagc
Gly80Met	gctcacagcatggggatggcgaacacactttac	gtaaagtgtgttcgccatccccatgctgtgagc
Ala81Asp	cacagcatgggggcgataacacactttactac	gtagtaaagtgtgttatcgcccccatgctgtg
Ala81Gln	cacagcatgggggccagaacacactttactac	gtagtaaagtgtgttctggcccccatgctgtg
Ala81cys	cacagcatgggggctgcaacacactttactac	gtagtaaagtgtgttgcagcccccatgctgtg
Ala81-Phe	cacagcatgggggctttaacacactttactac	gtagtaaagtgtgttaaagcccccatgctgtg
Thr83Ala	catgggggcgcgaacgcgctttactacataaaa	ttttatgtagtaaagcgcgttcgcgcccccatg
Thr83Ile	catgggggcgcgaacattctttactacataaaa	ttttatgtagtaaagaatgttcgcgcccccatg
Thr83Ser	catgggggcgcgaacagcctttactacataaaa	ttttatgtagtaaaggctgttcgcgcccccatg
Thr83Gln	catgggggcgcgaaccagctttactacataaaa	ttttatgtagtaaagctggttcgcgcccccatg
Thr83Cys	catgggggcgcgaactgcctttactacataaaa	ttttatgtagtaaaggcagttcgcgcccccatg
Tyr85Met	ggcgcgaacacacttatgtacataaaaaatctg	cagatttttttatgtacataagtgtgttcgcgcc
Tyr85Gln	ggcgcgaacacacttcagtacataaaaaatctg	cagatttttttatgtactgaagtgtgttcgcgcc
Tyr85Glu	ggcgcgaacacacttgaatacataaaaaatctg	cagatttttttatgtattcaagtgtgttcgcgcc
Tyr85-Ile	ggcgcgaacacacttatttacataaaaaatctg	cagatttttttatgtaaataagtgtgttcgcgcc
Tyr86-Phe	gcgaacacacttacttttataaaaaatctggac	gtccagatttttttataaagtaaagtgtgttcgc
Tyr86Gln	gcgaacacactttaccagataaaaaatctggac	gtccagatttttttatctggtaaagtgtgttcgc
Ile87Gln	gaacacactttactaccagaaaaatctggacggc	gccgtccagatttttctggtagtaaagtgtgttc
Lys88-Trp	cacactttactacatatggaatctggacggcgga	tccgccgtccagattccatatgtagtaaagtgtg
Asn89Cys	ctttactacataaaatgcctggacggcggaaat	atttccgccgtccaggcattttatgtagtaaag

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Asp91Lys	ctacataaaaaatctgaagggcggaaataaagtt	Aactttatttccgcccttcagatttttatgtag
Gly92Gln	aaaaatctggaccagggaaataaagtt	aactttatttccctggtccagattttt
Gly92Cys	aaaaatctggactgcggaaataaagtt	aactttatttccgcagtccagattttt
Gly93Asp	aatctggacggcgataataaagttgca	tgcaactttattatcgccgtccagatt
Gly93Glu	aatctggacggcgaaaataaagttgca	tgcaactttattttcgccgtccagatt
Gly93Lys	aatctggacggcaaaaataaagttgca	tgcaactttatttttgccgtccagatt
Gly93Ile	aatctggacggcattaataaagttgca	tgcaactttattaatgccgtccagatt
Gly93Gln	aatctggacggccagaataaagttgca	tgcaactttattctggccgtccagatt
Gly93Cys	aatctggacggctgcaataaagttgca	tgcaactttattgcagccgtccagatt
Asn94Cys	ctggacggcggatgcaaagttgcaaac	gtttgcaactttgcatccgccgtccag
Asn94Glu	ctggacggcggagaaaaagttgcaaac	gtttgcaacttttctccgccgtccag
Asn94Lys	ctggacggcggaaaaaaagttgcaaac	gtttgcaacttttttccgccgtccag
Asn94Trp	ctggacggcggatggaaagttgcaaac	gtttgcaactttccatccgccgtccag
Asn94Thr	ggacggcggaaccaaagttgcaa	ttgcaactttggttccgccgtcc
Lys95His	gacggcggaaatcatgttgcaaacgtc	gacgtttgcaacatgatttccgccgtc
Lys95Ile	gacggcggaaatattgttgcaaacgtc	gacgtttgcaacaatatttccgccgtc
Lys95Gln	gacggcggaaatcaggttgcaaacgtc	gacgtttgcaacctgatttccgccgtc
Val96Asp	ggcggaaataaagatgcaaacgtcgtg	cacgacgtttgcatctttatttccgcc
Val96Lys	ggcggaaataaaaaagcaaacgtcgtg	cacgacgtttgctttttatttccgcc
Val96Gln	ggcggaaataaacaggcaaacgtcgtg	cacgacgtttgcctgtttatttccgcc
Ala97Asp	ggaaataaagttgataacgtcgtgacg	cgtcacgacgttatcaactttatttcc
Ala97His	ggaaataaagttcataacgtcgtgacg	cgtcacgacgttatgaactttatttcc
Ala97Asn	ggaaataaagttaacaacgtcgtgacg	cgtcacgacgttgttaactttatttcc
Asn98Lys	aataaagttgcaaaagtcgtgacgctt	aagcgtcacgacttttgcaactttatt
Asn98Thr	aataaagttgcaaccgtcgtgacgctt	aagcgtcacgacggttgcaactttatt
Asn98Gln	aataaagttgcacaggtcgtgacgctt	aagcgtcacgacctgtgcaactttatt
Val100His	gttgcaaacgtccatacgcttggcggc	gccgccaagcgtatggacgtttgcaac
Val100Ala	gttgcaaacgtcgccacgcttggcggc	gccgccaagcgtggcgacgtttgcaac
Val100Ile	gttgcaaacgtcattacgcttggcggc	gccgccaagcgtaatgacgtttgcaac
Thr101His	gcaaacgtcgtgcatcttggcggcgcg	cgcgccgccaagatgcacgacgtttgc
Leu102Lys	cgtcgtgacgaaaggcggcgcga	tcgcgccgcctttcgtcacgacg
Ala105Cys	acgcttggcggctgcaaccgtttgacg	cgtcaaacggttgcagccgccaagcgt
Thr109Glu	gcgaaccgtttggaaacaggcaaggcg	cgccttgcctgtttccaaacggttcgc
Thr109Lys	gcgaaccgtttgaaaacaggcaaggcg	cgccttgcctgttttcaaacggttcgc
Thr109Ile	gcgaaccgtttgattacaggcaaggcg	cgccttgcctgtaatcaaacggttcgc
Thr109Asn	gaaccgtttgaacacaggcaagg	ccttgcctgtgttcaaacggttc
Lys112Asp	ttgacgacaggcgatgcgcttccggga	tcccggaagcgcatcgcctgtcgtcaa
Lys112Glu	ttgacgacaggcgaagcgcttccggga	tcccggaagcgcttcgcctgtcgtcaa
Ala113Cys	acgacaggcaagtgccttccgggaaca	tgttcccggaaggcacttgcctgtcgt
Ala113His	acgacaggcaagcatcttccgggaaca	tgttcccggaagatgcttgcctgtcgt
Ala113Asn	acgacaggcaagaaccttccgggaaca	tgttcccggaaggttcttgcctgtcgt
Ala113Gln	acgacaggcaagcagcttccgggaaca	tgttcccggaagctgcttgcctgtcgt
Leu114Glu	acaggcaaggcggaaccgggaacagat	atctgttcccggttccgccttgcctgt
Leu114Trp	acaggcaaggcgtggccgggaacagat	atctgttcccggccacgccttgcctgt
Pro115Trp	ggcaaggcgctttggggaacagatcca	tggatctgttccccaaagcgccttgcc
Gly116Met	aaggcgcttccgatgacagatccaaat	atttggatctgtcatcggaagcgcctt
Thr117Tyr	gcgcttccgggatatgatccaaatcaa	ttgatttggatcatatcccggaagcgc
Asp118Ile	cttccgggaacaattccaaatcaaaag	cttttgatttggaattgttcccggaag
Asp118Tyr	cttccgggaacatatccaaatcaaaag	cttttgatttggatatgttcccggaag
Pro119Cys	ccgggaacagattgcaatcaaaagatt	aatcttttgattgcaatctgttcccgg
Asn120Glu	ggaacagatccagaacaaaagatttta	taaaatcttttgttctggatctgttcc
Asn120Arg	ggaacagatccacgccaaaagatttta	taaaatcttttggcgtggatctgttcc

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Gln121Ala	acagatccaaatgccaagattttatac	gtataaaatcttggcatttggatctgt
Gln121Met	acagatccaaatatgaagattttatac	gtataaaatcttcatatttggatctgt
Lys122Tyr	gatccaaatcaatatattttatacaca	tgtgtataaaatatattgatttggatc
Lys122Cys	gatccaaatcaatgcattttatacaca	tgtgtataaaatgcattgatttggatc
Lys122Asp	gatccaaatcaagatattttatacaca	tgtgtataaaatatcttgatttggatc
Lys122Ile	gatccaaatcaaattattttatacaca	tgtgtataaaataatttgatttggatc
Lys122Phe	gatccaaatcaatttattttatacaca	tgtgtataaaataaattgatttggatc
Ile123Tyr	ccaaatcaaaagtatttatacacatcc	ggatgtgtataaatacttttgatttgg
Leu124Trp	aatcaaaagatttggtacacatccatt	aatggatgtgtaccaaatcttttgatt
Leu124Gln	aatcaaaagattcagtacacatccatt	aatggatgtgtactgaatcttttgatt
Leu124Glu	aatcaaaagattgaatacacatccatt	aatggatgtgtattcaatcttttgatt
Leu124Val	aatcaaaagattgtgtacacatccatt	aatggatgtgtacacaatcttttgatt
Leu124Tyr	aatcaaaagatttattacacatccatt	aatggatgtgtaataaatcttttgatt
Tyr125Ile	caaaagattttaattacatccatttac	gtaaatggatgtaattaaaatcttttg
Tyr125Met	caaaagattttaatgacatccatttac	gtaaatggatgtcattaaaatcttttg
Tyr125Gln	caaaagattttacagacatccatttac	gtaaatggatgtctgtaaaatcttttg
Thr126Asp	aagattttatacgattccatttacagc	gctgtaaatggaatcgtataaaatctt
Thr126Met	aagattttatacatgtccatttacagc	gctgtaaatggacatgtataaaatctt
Thr126Phe	aagattttatacttttccatttacagc	gctgtaaatggaaaagtataaaatctt
Thr126Lys	gattttatacaaatccatttaca	tgtaaatggatttgtataaaatc
Thr126Cys	gattttatactgctccatttaca	tgtaaatggagcagtataaaatc
Ser127Gln	attttatacacacagatttacagcagt	actgctgtaaatctgtgtgtataaaat
Ser127Glu	attttatacacagaaatttacagcagt	actgctgtaaatttctgtgtataaaat
Ser127Met	attttatacacaatgatttacagcagt	actgctgtaaatcattgtgtataaaat
Ser127Trp	attttatacacatggatttacagcagt	actgctgtaaatccatgtgtataaaat
Ile128Asp	ttatacacatccgattacagcagtgcc	ggcactgctgtaatcggatgtgtataa
Ile128Cys	ttatacacatcctgctacagcagtgcc	ggcactgctgtagcaggatgtgtataa
Tyr129His	tacacatccattcatagcagtgccgat	atcggcactgctatgaatggatgtgta
Tyr129Asn	tacacatccattaacagcagtgccgat	atcggcactgctgttaatggatgtgta
Tyr129Cys	tacacatccatttgcagcagtgccgat	atcggcactgctgcaaatggatgtgta
Ser130Asp	acatccatttacgatagtgccgatatg	catatcggcactatcgtaaatggatgt
Ser130Trp	acatccatttactggagtgccgatatg	catatcggcactccagtaaatggatgt
Ser131Gln	tccatttacagccaggccgatatgatt	aatcatatcggcctggctgtaaatgga
Ser131Ala	catttacagcgccgccgatatga	tcatatcggcggcgctgtaaatg
Ala132Gln	atttacagcagtcaggatatgattgtc	gacaatcatatcctgactgctgtaaat
Ala132Lys	atttacagcagtaaagatatgattgtc	gacaatcatatctttactgctgtaaat
Ala132Ile	atttacagcagtattgatatgattgtc	gacaatcatatcaatactgctgtaaat
Ala132Met	atttacagcagtatggatatgattgtc	gacaatcatatccatactgctgtaaat
Met134Phe	agcagtgccgattttattgtcatgaat	attcatgacaataaaatcggcactgct
Met134Tyr	agcagtgccgattatattgtcatgaat	attcatgacaatataatcggcactgct
Ile135Gln	agtgccgatatgcaggtcatgaattac	gtaattcatgacctgcatatcggcact
Val136Trp	gccgatatgatttggatgaattactta	taagtaattcatccaaatcatatcggc
Val136Cys	gccgatatgatttgcatgaattactta	taagtaattcatgcaaatcatatcggc
Val136His	cgatatgattcatatgaattact	agtaattcatatgaatcatatcg
Met137Asn	gatatgattgtcaacaattacttatca	tgataagtaattgttgacaatcatatc
Met137Cys	gatatgattgtctgcaattacttatca	tgataagtaattgcagacaatcatatc
Met137Pro	gatatgattgtcccgaattacttatca	tgataagtaattcgggacaatcatatc
Met137Asp	gatatgattgtcgataattacttatca	tgataagtaattatcgacaatcatatc
Met137His	gatatgattgtccataattacttatca	tgataagtaattatggacaatcatatc
Met137Tyr	gatatgattgtctataattacttatca	tgataagtaattatagacaatcatatc
Asn138Cys	atgattgtcatgtgctacttatcaaga	tcttgataagtagcacatgacaatcat
Tyr139Phe	attgtcatgaatttttatcaagatta	taatcttgataaaaaattcatgacaat

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Tyr139Gln	attgtcatgaatcagttatcaagatta	taatcttgataactgattcatgacaat
Tyr139Pro	tgtcatgaatccgttatcaagat	atcttgataacggattcatgaca
Tyr139Ile	tgtcatgaatattttatcaagat	atcttgataaaatattcatgaca
Tyr139Met	tgtcatgaatatgttatcaagat	atcttgataacatattcatgaca
Leu140Gln	gtcatgaattaccagtcaagattagat	atctaatcttgactggtaattcatgac
Arg142Phe	aattacttatcatttttagatggtgct	agcaccatctaaaaatgataagtaatt
Leu143Asp	tacttatcaagagatgatggtgctaga	tctagcaccatcatctcttgataagta
Asp144Phe	ttatcaagattatttggtgctagaaac	gtttctagcaccaaataatcttgataa
Gly145Phe	tcaagattagattttgctagaaacgtt	aacgtttctagcaaaatctaatcttga
Gly145Gln	tcaagattagatcaggctagaaacgtt	aacgtttctagcctgatctaatcttga
Arg147Trp	ttagatggtgcttggaacgttcaaatc	gatttgaacgttccaagcaccatctaa
Arg147Glu	ttagatggtgctgaaaacgttcaaatc	gatttgaacgttttcagcaccatctaa
Arg147Lys	ttagatggtgctaaaaacgttcaaatc	gatttgaacgtttttagcaccatctaa
Arg147Met	ttagatggtgctatgaacgttcaaatc	gatttgaacgttcatagcaccatctaa
Asn148Trp	gatggtgctagatgggttcaaatccat	atggatttgaacccatctagcaccatc
Asn148Val	tggtgctagagtggttcaaatcc	ggatttgaaccactctagcacca
Val149Gln	ggtgctagaaaccagcaaatccatggc	gccatggatttgctggtttctagcacc
Gln150Asn	gctagaaacgttaacatccatggcgtt	aacgccatggatgttaacgtttctagc
Ile151Glu	agaaacgttcaagaacatggcgttgga	tccaacgccatgttcttgaacgtttct
Ile151Arg	agaaacgttcaacgccatggcgttgga	tccaacgccatggcgttgaacgtttct
Ile151Cys	agaaacgttcaatgccatggcgttgga	tccaacgccatggcattgaacgtttct
His152Asp	aacgttcaaatcgatggcgttggacac	gtgtccaacgccatcgatttgaacgtt
His152Cys	aacgttcaaatctgcggcgttggacac	gtgtccaacgccgcagatttgaacgtt
Val154His	aatccatggccatggacacatcg	cgatgtgtccatggccatggatt
His156Met	catggcgttggaatgatcggccttctg	cagaaggccgatcattccaacgccatg
His156Cys	catggcgttggatgcatcggccttctg	cagaaggccgatgcatccaacgccatg
Ile157Gln	ggcgttggacaccagggccttctgtac	gtacagaaggccctggtgtccaacgcc
Ile157Asp	ggcgttggacacgatggccttctgtac	gtacagaaggccatcgtgtccaacgcc
Ile157Glu	ggcgttggacacgaaggccttctgtac	gtacagaaggccttcgtgtccaacgcc
Ile157Met	ggcgttggacacatgggccttctgtac	gtacagaaggcccatgtgtccaacgcc
Gly158Met	gttggacacatcatgcttctgtacagc	gctgtacagaagcatgatgtgtccaac
Gly158Phe	gttggacacatctttcttctgtacagc	gctgtacagaagaaagatgtgtccaac
Gly158Asn	gttggacacatcaaccttctgtacagc	gctgtacagaaggttgatgtgtccaac
Leu159Ile	ggacacatcggcattctgtacagcagc	gctgctgtacagaatgccgatgtgtcc
Leu160Asp	cacatcggccttgattacagcagccaa	ttggctgctgtaatcaaggccgatgtg
Tyr161Asp	atcggccttctggatagcagccaagtc	gacttggctgctatccagaaggccgat
Tyr161Val	atcggccttctggtgagcagccaagtc	gacttggctgctcaccagaaggccgat
Ser163Phe	cttctgtacagctttcaagtcaacagc	gctgttgacttgaaagctgtacagaag
Ser163Gln	cttctgtacagccagcaagtcaacagc	gctgttgacttgctggctgtacagaag
Ser163Cys	cttctgtacagctgccaagtcaacagc	gctgttgacttggcagctgtacagaag
Gln164Asp	ctgtacagcagcgatgtcaacagcctg	caggctgttgacatcgctgctgtacag
Gln164Ile	ctgtacagcagcattgtcaacagcctg	caggctgttgacaatgctgctgtacag
Gln164Trp	ctgtacagcagctgggtcaacagcctg	caggctgttgacccagctgctgtacag
Val165Gln	tacagcagccaacagaacagcctgatt	aatcaggctgttctgttggctgctgta
Val165Cys	tacagcagccaatgcaacagcctgatt	aatcaggctgttgcattggctgctgta
Asn166Glu	agcagccaagtcgaaagcctgattaaa	tttaatcaggctttcgacttggctgct
Asn166Met	agcagccaagtcatgagcctgattaaa	tttaatcaggctcatgacttggctgct
Asn166Tyr	agcagccaagtctatagcctgattaaa	tttaatcaggctatagacttggctgct
Ser167Val	agccaagtcaacgtgctgattaaagaa	ttctttaatcagcacgttgacttggct
Ser167Trp	agccaagtcaactggctgattaaagaa	ttctttaatcagccagttgacttggct
Ser167Gln	agccaagtcaaccagctgattaaagaa	ttctttaatcagctggttgacttggct
Ser167Met	ccaagtcaacatgctgattaaag	ctttaatcagcatgttgacttgg

Primer name	Forward primer	Reverse primer
Leu168Thr	caagtcaacagcaccattaaagaaggg	cccttctttaatggtgctgttgacttg
Leu168Asn	caagtcaacagcaacattaaagaaggg	cccttctttaatgttgctgttgacttg
Ile169Glu	gtcaacagcctggaaaaagaagggctg	cagcccttctttttccaggctgttgac
Lys170Cys	aacagcctgatttgcgaagggctgaac	gttcagcccttcgcaaatcaggctgtt
Lys170Gly	aacagcctgattggcgaagggctgaac	gttcagcccttcgccaatcaggctgtt
Glu171Trp	agcctgattaaatgggggctgaacggc	gccgttcagccccccatttaatcaggct
Glu171Gln	agcctgattaaacaggggctgaacggc	gccgttcagcccctgtttaatcaggct
Gly172Phe	ctgattaaagaatttctgaacggcggg	cccgccgttcagaaattctttaatcag
Leu173Asp	attaaagaaggggataacggcgggggc	gcccccgccgttatccccttctttaat
Leu173Lys	attaaagaagggaaaaacggcgggggc	gcccccgccgtttttcccttctttaat
Gly175Lys	gaagggctgaacaaaggggggccagaat	attctggcccccctttgttcagcccttc
Gly175Asn	gaagggctgaacaacgggggccagaat	attctggcccccgttgttcagcccttc
Gly176Lys	gggctgaacggcaaaggccagaatacg	cgtattctggcctttgccgttcagccc
Gly176Cys	gggctgaacggctgcggccagaatacg	cgtattctggccgcagccgttcagccc
Gly177Asp	ctgaacggcggggatcagaatacgaat	attcgtattctgatccccgccgttcag
Gly177Gln	ctgaacggcgggcagcagaatacgaat	attcgtattctgctgcccgccgttcag
Gly177Cys	ctgaacggcgggtgccagaatacgaat	attcgtattctggcacccgccgttcag
Gly177His	gaacggcgggcatcagaatacga	tcgtattctgatgcccgccgttc
Gln178His	aacggcgggggccataatacgaattaa	ttaattcgtattatggcccccgccgtt
Asn179Ala	ggcgggggccaggccacgaattaatga	tcattaattcgtggcctggcccccgcc
Asn179Met	ggcgggggccagatgacgaattaatga	tcattaattcgtcatctggcccccgcc
Thr180Gln	gggggccagaatcagaattaatgagag	ctctcattaattctgattctggccccc
Thr180Gly	gggggccagaatggcaattaatgagag	ctctcattaattgccattctggccccc
Asn181Glu	ggccagaatacggaataatgagagctc	gagctctcattattccgtattctggcc
Asn181Met	ggccagaatacgatgtaatgagagctc	gagctctcattacatcgtattctggcc

Table 6-3 List of primers for mulltiplex IonTorrent sequencing.

Name	Primer Seuence	comment
ROW1MID3	AGACGCACTCgcgtACGAGTGCGTACGTA	MTP row A
ROW2MID4	AGCACTGTAGgaggtACGAGTGCGTACGTA	MTP row B
ROW3MID5	ATCAGACACGaACGAGTGCGTACGTA	MTP row C
ROW4MID6	ATATCGCGAGccgaACGAGTGCGTACGTA	MTP row D
ROW5MID7	CGTGTCTCTAcgtaACGAGTGCGTACGTA	MTP row E
ROW6MID8	CTCGCGTGTCACGAGTGCGTACGTA	MTP row F
ROW7MID9	TCTCTATGCGagtccACGAGTGCGTACGTA	MTP row G
ROW8MID10	TGATACGTCTagtACGAGTGCGTACGTA	MTP row H
COL1MID11	CATAGTAGTGagtACGCTCGACAGCAT	MTP column 1
COL2MID12	CGAGAGATACACGCTCGACAGCAT	MTP column 2
COL3MID13	ATACGACGTAgcACGCTCGACAGCAT	MTP column 3
COL4MID14	TCACGTACTAaACGCTCGACAGCAT	MTP column 4
COL5MID15	CGTCTAGTACaACGCTCGACAGCAT	MTP column 5
COL6MID16	TCTACGTAGCaccgACGCTCGACAGCAT	MTP column 6
COL7MID17	TGTACTACTCgcACGCTCGACAGCAT	MTP column 7
COL8MID18	ACGACTACAGacgtacACGCTCGACAGCAT	MTP column 8
COL9MID19	CGTAGACTAGgcACGCTCGACAGCAT	MTP column 9
COL10MID20	TACGAGTATGaACGCTCGACAGCAT	MTP column 10
COL11MID21	TACTCTCGTGagtACGCTCGACAGCAT	MTP column 11

Name	Primer Seuence	comment
COL12MID22	TAGAGACGAGcgtaACGCTCGACAGCAT	MTP column 12
11upMID23	ACGAGTGCGTACGTATCGTCGCTCGagtATGGCCATGGATATC	pos 1-7 (fw)
12upMID24	ACGAGTGCGTACGTAACATACGCGTgcATGGCCATGGATATC	pos 8-14 (fw)
13upMID25	ACGAGTGCGTACGTAACGCGAGTATgcATGGCCATGGATATC	pos 15-21 (fw)
14upMID26	ACGAGTGCGTACGTAACTACTATGTaATGGCCATGGATATC	pos 22-28 (fw)
15upMID27	ACGAGTGCGTACGTAACTGTACAGTagtATGGCCATGGATATC	pos 29-35 (fw)
16upMID28	ACGAGTGCGTACGTAAGACTATACTcgtaATGGCCATGGATATC	pos 36-42 (fw)
17upMID29	ACGAGTGCGTACGTAAGCGTCGTCTgcATGGCCATGGATATC	pos 43-45 (fw)
11revMID30	ACGCTCGACAGCATAGTACGCTATagtGTTATAATTTGTGCC	pos 1-7 (rv)
12revMID31	ACGCTCGACAGCATATAGAGTACTagtGTTATAATTTGTGCC	pos 8-14 (rv)
13revMID32	ACGCTCGACAGCATCACGCTACGTagtGTTATAATTTGTGCC	pos 15-21 (rv)
14revMID33	ACGCTCGACAGCATATAGAGTACTGTTATAATTTGTGCC	pos 22-28 (rv)
15revMID34	ACGCTCGACAGCATCACGCTACGTcgtaGTTATAATTTGTGCC	pos 29-35 (rv)
16revMID35	ACGCTCGACAGCATCAGTAGACGTaGTTATAATTTGTGCC	pos 36-42 (rv)
17revMID36	ACGCTCGACAGCATCGACGTGACTgcGTTATAATTTGTGCC	pos 43-45 (rv)
21upMID37	ACGAGTGCGTACGTATACACACACTgcTTTTGGGACAAGACA	pos 46-52 (fw)
22upMID38	ACGAGTGCGTACGTATACACGTGATaTTTTGGGACAAGACA	pos 53-59 (fw)
23upMID39	ACGAGTGCGTACGTATACAGATCGTagtTTTTGGGACAAGACA	pos 60-66 (fw)
24upMID40	ACGAGTGCGTACGTATACGCTGTCTcgtaTTTTGGGACAAGACA	pos 67-73 (fw)
25upMID41	ACGAGTGCGTACGTATAGTGTAGATTTTTGGGACAAGACA	pos 74-80 (fw)
26upMID42	ACGAGTGCGTACGTATCGATCACGTagtTTTTGGGACAAGACA	pos 81-87 (fw)
27upMID43	ACGAGTGCGTACGTATCGCACTAGTagtTTTTGGGACAAGACA	pos 88-90 (fw)
21revMID44	ACGCTCGACAGCATTCTAGCGACTagtAACTTTATTTCCGCC	pos 46-52 (rv)
22revMID45	ACGCTCGACAGCATTCTATACTATAACTTTATTTCCGCC	pos 53-59 (rv)
23revMID46	ACGCTCGACAGCATTGACGTATGTagtAACTTTATTTCCGCC	pos 60-66 (rv)
24revMID47	ACGCTCGACAGCATTGTGAGTAGTgcAACTTTATTTCCGCC	pos 67-73 (rv)
25revMID48	ACGCTCGACAGCATACAGTATATAgcAACTTTATTTCCGCC	pos 74-80 (rv)
26revMID49	ACGCTCGACAGCATACGCGATCGAaAACTTTATTTCCGCC	pos 81-87 (rv)
27revMID50	ACGCTCGACAGCATACTAGCAGTAagtAACTTTATTTCCGCC	pos 88-90 (rv)
31upMID51	ACGAGTGCGTACGTAAGCTCACGTAcgtaCATAAAAAATCTGGAC	pos 91-97 (fw)
32upMID52	ACGAGTGCGTACGTAAGTATACATACATAAAAAATCTGGAC	pos 98-104 (fw)
33upMID53	ACGAGTGCGTACGTAAGTCGAGAGAagtCATAAAAAATCTGGAC	pos 105-111 (fw)
34upMID54	ACGAGTGCGTACGTAAGTGCTACGAagtCATAAAAAATCTGGAC	pos 112-118 (fw)
35upMID55	ACGAGTGCGTACGTACGATCGTATAagtCATAAAAAATCTGGAC	pos 119-125 (fw)
36upMID56	ACGAGTGCGTACGTACGCAGTACGACATAAAAAATCTGGAC	pos 126-132 (fw)
37upMID57	ACGAGTGCGTACGTACGCGTATACAcgtaCATAAAAAATCTGGAC	pos 133-135 (fw)
31revMID58	ACGCTCGACAGCATCGTACAGTCAaTCTTGATAAGTAATT	pos 91-97 (rv)
32revMID59	ACGCTCGACAGCATCGTACTCAGAagtTCTTGATAAGTAATT	pos 98-104 (rv)
33revMID60	ACGCTCGACAGCATCTACGCTCTAgcTCTTGATAAGTAATT	pos 105-111 (rv)
34revMID61	ACGCTCGACAGCATCTATAGCGTAaTCTTGATAAGTAATT	pos 112-118 (rv)
35revMID62	ACGCTCGACAGCATTACGTCATCAagtTCTTGATAAGTAATT	pos 119-125 (rv)
36revMID63	ACGCTCGACAGCATTAGTCGCATAcgtaTCTTGATAAGTAATT	pos 126-132 (rv)

Name	Primer Seuence	comment
37revMID64	ACGCTCGACAGCATTATATATACATCTTGATAAGTAATT	pos 133-135 (rv)
41upMID65	ACGAGTGCGTACGTATATGCTAGTAaGATATGATTGTCATG	pos 136-142 (fw)
42upMID66	ACGAGTGCGTACGTATCACGCGAGAgcGATATGATTGTCATG	pos 143-149 (fw)
43upMID67	ACGAGTGCGTACGTATCGATAGTGAaGATATGATTGTCATG	pos 150-156 (fw)
44upMID68	ACGAGTGCGTACGTATCGCTGCGTAagtGATATGATTGTCATG	pos 157-163 (fw)
45upMID69	ACGAGTGCGTACGTATCTGACGTCAcgtaGATATGATTGTCATG	pos 164-170 (fw)
46upMID70	ACGAGTGCGTACGTATGAGTCAGTAGATATGATTGTCATG	pos 171-177 (fw)
47upMID71	ACGAGTGCGTACGTATGTAGTGTGAagtGATATGATTGTCATG	pos 178-181 (fw)
41revMID72	ACGCTCGACAGCATTGTCACACGAagtacggagctctcaTTA	pos 136-142 (rv)
42revMID73	ACGCTCGACAGCATTGTCGTCGCAagtacggagctctcaTTA	pos 143-149 (rv)
43revMID74	ACGCTCGACAGCATACACATACGCacggagctctcaTTA	pos 150-156 (rv)
44revMID75	ACGCTCGACAGCATACAGTCGTGCcgtaacggagctctcaTTA	pos 157-163 (rv)
45revMID76	ACGCTCGACAGCATACATGACGACagtacggagctctcaTTA	pos 164-170 (rv)
46revMID77	ACGCTCGACAGCATACGACAGCTCagtacggagctctcaTTA	pos 171-177 (rv)
47revMID78	ACGCTCGACAGCATACGTCTCATCgcacggagctctcaTTA	pos 178-181 (rv)

6.2 DNA and amino acid sequence *Bacillus subtilis* lipase A

6.2.1 MCS in pET22lipAPelB and pET28lipAPelB

```
                                  >T7                                 >LacO
                                    |                                   |
ct cga tcc cgc gaa att aat acg act cac tat agg gga att gtg agc gga  < 5150
   R   S   R   E   I   N   T   T   H   Y   R   G   I   V   S   G
ga gct agg gcg ctt taa tta tgc tga gtg ata tcc cct taa cac tcg cct

               XbaI                                  >BarI
                |                                     |
taa caa ttc ccc tct aga aat aat ttt gtt taa ctt taa gaa gga gat at  < 5200
*   Q   F   P   S   R   N   N   F   V   *   L   *   E   G   D   I
att gtt aag ggg aga tct tta tta aaa caa att gaa att ctt cct cta ta

  NdeI          >BspMI                                  >pelb
   |              |                                     |  |
a cat ATG AAA TAC CTG CTG CCG ACC GCT GCT GCT GGT CTG CTG CTC CTC G  < 5250
  H   M   K   Y   L   L   P   T   A   A   A   G   L   L   L   L   A
t gta TAC TTT ATG GAC GAC GGC TGG CGA CGA CGA CCA GAC GAC GAG GAG C

                    MscI
                     |
CT GCC CAG CCG GCG ATG GCC ATG GAT ATC GCT GAA CAC AAT CCA GTC GTT  < 5300
   A   Q   P   A   M   A   M   D   I   A   E   H   N   P   V   V
GA CGG GTC GGC CGC TAC CGG TAC CTA TAG CGA CTT GTG TTA GGT CAG CAA


ATG GTT CAC GGT ATT GGA GGG GCA TCA TTC AAT TTT GCG GGA ATT AAG AG  < 5350
M   V   H   G   I   G   G   A   S   F   N   F   A   G   I   K   S
TAC CAA GTG CCA TAA CCT CCC CGT AGT AAG TTA AAA CGC CCT TAA TTC TC


C TAT CTC GTA TCT CAG GGC TGG TCG CGG GAC AAG CTG TAT GCA GTT GAT T  < 5400
  Y   L   V   S   Q   G   W   S   R   D   K   L   Y   A   V   D   F
G ATA GAG CAT AGA GTC CCG ACC AGC GCC CTG TTC GAC ATA CGT CAA CTA A

                                          AgeI
                                           |
TT TGG GAC AAG ACA GGC ACA AAT TAT AAC AAT GGA CCG GTA TTA TCA CGA  < 5450
   W   D   K   T   G   T   N   Y   N   N   G   P   V   L   S   R
AA ACC CTG TTC TGT CCG TGT TTA ATA TTG TTA CCT GGC CAT AAT AGT GCT


TTT GTG CAA AAG GTT TTA GAT GAA ACG GGT GCG AAA AAA GTG GAT ATT GT  < 5500
F   V   Q   K   V   L   D   E   T   G   A   K   K   V   D   I   V
AAA CAC GTT TTC CAA AAT CTA CTT TGC CCA CGC TTT TTT CAC CTA TAA CA

                           >PsrI
                            |
C GCT CAC AGC ATG GGG GGC GCG AAC ACA CTT TAC TAC ATA AAA AAT CTG G  < 5550
  A   H   S   M   G   G   A   N   T   L   Y   Y   I   K   N   L   D
G CGA GTG TCG TAC CCC CCG CGC TTG TGT GAA ATG ATG TAT TTT TTA GAC C

 >lipa
  |
AC GGC GGA AAT AAA GTT GCA AAC GTC GTG ACG CTT GGC GGC GCG AAC CGT  < 5600
   G   G   N   K   V   A   N   V   V   T   L   G   G   A   N   R
TG CCG CCT TTA TTT CAA CGT TTG CAG CAC TGC GAA CCG CCG CGC TTG GCA


TTG ACG ACA GGC AAG GCG CTT CCG GGA ACA GAT CCA AAT CAA AAG ATT TT  < 5650
```

```
L   T   T   G   K   A   L   P   G   T   D   P   N   Q   K   I   L
AAC TGC TGT CCG TTC CGC GAA GGC CCT TGT CTA GGT TTA GTT TTC TAA AA


A TAC ACA TCC ATT TAC AGC AGT GCC GAT ATG ATT GTC ATG AAT TAC TTA T  < 5700
  Y   T   S   I   Y   S   S   A   D   M   I   V   M   N   Y   L   S
T ATG TGT AGG TAA ATG TCG TCA CGG CTA TAC TAA CAG TAC TTA ATG AAT A


CA AGA TTA GAT GGT GCT AGA AAC GTT CAA ATC CAT GGC GTT GGA CAC ATC  < 5750
   R   L   D   G   A   R   N   V   Q   I   H   G   V   G   H   I
GT TCT AAT CTA CCA CGA TCT TTG CAA GTT TAG GTA CCG CAA CCT GTG TAG

         BsrGI
          |
GGC CTT CTG TAC AGC AGC CAA GTC AAC AGC CTG ATT AAA GAA GGG CTG AA  < 5800
G   L   L   Y   S   S   Q   V   N   S   L   I   K   E   G   L   N
CCG GAA GAC ATG TCG TCG GTT CAG TTG TCG GAC TAA TTT CTT CCC GAC TT

                                    SacI                      NotI
                                    Eco53kI  SalI    HindIII  EagI
                                    |        |       |        ||
C GGC GGG GGC CAG AAT ACG AAT TAA tga gag ctc cgt cga caa gct tgc g  < 5850
  G   G   G   Q   N   T   N   *   *   E   L   R   R   Q   A   C   G
G CCG CCC CCG GTC TTA TGC TTA ATT act ctc gag gca gct gtt cga acg c

        AvaI
        XhoI
        Nli3877I
        SciI
       PspXI              >6His
       ||                 |
gc cgc act cga gca cca cca cca cca cca ctg aga tcc ggc tgc taa caa  < 5900
   R   T   R   A   P   P   P   P   P   L   R   S   G   C   *   Q
cg gcg tga gct cgt ggt ggt ggt ggt ggt gac tct agg ccg acg att gtt
```

6.2.2 MCS in pET22lipAΔss and pET28lipAΔss

```
                                                          >T7
                          BglII                             >T7\promoter
                          |                                 ||
c gtc cgg cgt aga gga tcg aga tct cga tcc cgc gaa att aat acg act c  < 5000
  V   R   R   R   G   S   R   S   R   S   R   E   I   N   T   T   H
g cag gcc gca tct cct agc tct aga gct agg gcg ctt taa tta tgc tga g

                          >lac\operator
                         >LacO              XbaI
                         | |                |
ac tat agg gga att gtg agc gga taa caa ttc ccc tct aga aat aat ttt  < 5050
   Y   R   G   I   V   S   G   *   Q   F   P   S   R   N   N   F
tg ata tcc cct taa cac tcg cct att gtt aag ggg aga tct tta tta aaa

                    >rbs
                >BarI          NdeI                        >6His
                |   |          |                           |
gtt taa ctt taa gaa gga gat ata cat ATG GGC AGC AGC CAT CAT CAT CA  < 5100
V   *   L   *   E   G   D   I   H   M   G   S   S   H   H   H   H
caa att gaa att ctt cct cta tat gta TAC CCG TCG TCG GTA GTA GTA GT

                                  >Thrombin site
                                  |
T CAT CAC AGC AGC GGC CTG GTG CCG CGC GGC AGC CAT GCT GAA CAC AAT C  < 5150
  H   H   S   S   G   L   V   P   R   G   S   H   A   E   H   N   P
A GTA GTG TCG TCG CCG GAC CAC GGC GCG CCG TCG GTA CGA CTT GTG TTA G
```

```
   >T7\terminator [*]
    |
CA GTC GTT ATG GTT CAC GGT ATT GGA GGG GCA TCA TTC AAT TTT GCG GGA  < 5200
   V   V   M   V   H   G   I   G   G   A   S   F   N   F   A   G
GT CAG CAA TAC CAA GTG CCA TAA CCT CCC CGT AGT AAG TTA AAA CGC CCT


ATT AAG AGC TAT CTC GTA TCT CAG GGC TGG TCG CGG GAC AAG CTG TAT GC  < 5250
I   K   S   Y   L   V   S   Q   G   W   S   R   D   K   L   Y   A
TAA TTC TCG ATA GAG CAT AGA GTC CCG ACC AGC GCC CTG TTC GAC ATA CG

                                                        AgeI
                                                         |
A GTT GAT TTT TGG GAC AAG ACA GGC ACA AAT TAT AAC AAT GGA CCG GTA T  < 5300
  V   D   F   W   D   K   T   G   T   N   Y   N   N   G   P   V   L
T CAA CTA AAA ACC CTG TTC TGT CCG TGT TTA ATA TTG TTA CCT GGC CAT A


TA TCA CGA TTT GTG CAA AAG GTT TTA GAT GAA ACG GGT GCG AAA AAA GTG  < 5350
   S   R   F   V   Q   K   V   L   D   E   T   G   A   K   K   V
AT AGT GCT AAA CAC GTT TTC CAA AAT CTA CTT TGC CCA CGC TTT TTT CAC

                                    >lipAhis
                                    >PsrI
                                     |
GAT ATT GTC GCT CAC AGC ATG GGG GGC GCG AAC ACA CTT TAC TAC ATA AA  < 5400
D   I   V   A   H   S   M   G   G   A   N   T   L   Y   Y   I   K
CTA TAA CAG CGA GTG TCG TAC CCC CCG CGC TTG TGT GAA ATG ATG TAT TT


A AAT CTG GAC GGC GGA AAT AAA GTT GCA AAC GTC GTG ACG CTT GGC GGC G  < 5450
  N   L   D   G   G   N   K   V   A   N   V   V   T   L   G   G   A
T TTA GAC CTG CCG CCT TTA TTT CAA CGT TTG CAG CAC TGC GAA CCG CCG C


CG AAC CGT TTG ACG ACA GGC AAG GCG CTT CCG GGA ACA GAT CCA AAT CAA  < 5500
   N   R   L   T   T   G   K   A   L   P   G   T   D   P   N   Q
GC TTG GCA AAC TGC TGT CCG TTC CGC GAA GGC CCT TGT CTA GGT TTA GTT


AAG ATT TTA TAC ACA TCC ATT TAC AGC AGT GCC GAT ATG ATT GTC ATG AA  < 5550
K   I   L   Y   T   S   I   Y   S   S   A   D   M   I   V   M   N
TTC TAA AAT ATG TGT AGG TAA ATG TCG TCA CGG CTA TAC TAA CAG TAC TT

                                                    NcoI
                                                     |
T TAC TTA TCA AGA TTA GAT GGT GCT AGA AAC GTT CAA ATC CAT GGC GTT G  < 5600
  Y   L   S   R   L   D   G   A   R   N   V   Q   I   H   G   V   G
A ATG AAT AGT TCT AAT CTA CCA CGA TCT TTG CAA GTT TAG GTA CCG CAA C

                    BsrGI
                     |
GA CAC ATC GGC CTT CTG TAC AGC AGC CAA GTC AAC AGC CTG ATT AAA GAA  < 5650
   H   I   G   L   L   Y   S   S   Q   V   N   S   L   I   K   E
CT GTG TAG CCG GAA GAC ATG TCG TCG GTT CAG TTG TCG GAC TAA TTT CTT

                                                    Eco53kI
                                                    SacI      SalI     HindIII
                                                     |         |        |
GGG CTG AAC GGC GGG GGC CAG AAT ACG AAT TAA tga gag ctc CGT CGA CA  < 5700
G   L   N   G   G   G   Q   N   T   N   *   *   E   L   R   R   Q
CCC GAC TTG CCG CCC CCG GTC TTA TGC TTA ATT act ctc gag GCA GCT GT

                   SciI
                   XhoI
                   Nli3877I
        EagI       AvaI
       NotI       PspXI              >6His
```

```
       ||         ||                  |
a gct tgc ggc cgc act cga gca cca cca cca cca cca ctg aga tcc ggc t  < 5750
  A   C   G   R   T   R   A   P   P   P   P   P   L   R   S   G   C
t cga acg ccg gcg tga gct cgt ggt ggt ggt ggt ggt gac tct agg ccg a
```

6.2.3 MCS in pBSlipAssLipA

```
agt ctg gct ttc ggt aag cta gac aaa acg gac aaa ata aaa att ggc aa  < 1700
S   L   A   F   G   K   L   D   K   T   D   K   I   K   I   G   K
tca gac cga aag cca ttc gat ctg ttt tgc ctg ttt tat ttt taa ccg tt

                                        >HpaII
                                        |
g ggt tta aag gtg gag att ttt tga gtg atc ttc tca aaa aat act acc t  < 1750
  G   L   K   V   E   I   F   *   V   I   F   S   K   N   T   T   C
c cca aat ttc cac ctc taa aaa act cac tag aag agt ttt tta tga tgg a

                                                              <BbvCI
                                                              |
gt ccc ttg ctg att ttt aaa cga gca cga gag caa aac ccc cct ttg ctg  < 1800
   P   L   L   I   F   K   R   A   R   E   Q   N   P   P   L   L
ca ggg aac gac taa aaa ttt gct cgt gct ctc gtt ttg ggg gga aac gac


agg tgg cag agg gca ggt ttt ttt gtt tct ttt ttc tcg taa aaa aaa ga  < 1850
R   W   Q   R   A   G   F   F   V   S   F   F   S   *   K   K   E
tcc acc gtc tcc cgt cca aaa aaa caa aga aaa aag agc att ttt ttt ct


a agg tct taa agg ttt tat ggt ttt ggt cgg cac tgc cga cag cct cgc a  < 1900
  R   S   *   R   F   Y   G   F   G   R   H   C   R   Q   P   R   R
t tcc aga att tcc aaa ata cca aaa cca gcc gtg acg gct gtc gga gcg t


gg aca cac act tta tga ata taa agt ata gtg tgt tat act tta ctt gga  < 1950
   T   H   T   L   *   I   *   S   I   V   C   Y   T   L   L   G
cc tgt gtg tga aat act tat att tca tat cac aca ata tga aat gaa cct

                                        AleI
                                        |
agt ggt tgc cgg aaa gag cga aaa tgc ctc aca ttt gtg cca cct aaa aa  < 2000
S   G   C   R   K   E   R   K   C   L   T   F   V   P   P   K   K
tca cca acg gcc ttt ctc gct ttt acg gag tgt aaa cac ggt gga ttt tt

                                    NdeI
                                    |
g gag cga ttt aca taa taa gga gga cat atg aaa ttt gta aaa aga agg a  < 2050
  E   R   F   T   *   *   G   G   H   M   K   F   V   K   R   R   I
c ctc gct aaa tgt att att cct cct gta tac ttt aaa cat ttt tct tcc t

                    homologous lipA signal peptide
                                    |
tc att gca ctt gta aca att ttg atg ctg tct gtt aca tcg ctg ttt gcg  < 2100
   I   A   L   V   T   I   L   M   L   S   V   T   S   L   F   A
ag taa cgt gaa cat tgt taa aac tac gac aga caa tgt agc gac aaa cgc


ttg cag ccg tca gca aaa gcc gct gaa cac aat cca gtc gtt atg gtt ca  < 2150
L   Q   P   S   A   K   A   A   E   H   N   P   V   V   M   V   H
aac gtc ggc agt cgt ttt cgg cga ctt gtg tta ggt cag caa tac caa gt
```

```
c ggt att gga ggg gca tca ttc aat ttt gcg gga att aag agc tat ctc g  < 2200
  G   I   G   G   A   S   F   N   F   A   G   I   K   S   Y   L   V
g cca taa cct ccc cgt agt aag tta aaa cgc cct taa ttc tcg ata gag c


ta tct cag ggc tgg tcg cgg gac aag ctg tat gca gtt gat ttt tgg gac  < 2250
   S   Q   G   W   S   R   D   K   L   Y   A   V   D   F   W   D
at aga gtc ccg acc agc gcc ctg ttc gac ata cgt caa cta aaa acc ctg


aag aca ggc aca aat tat aac aat gga ccg gta tta tca cga ttt gtg ca  < 2300
K   T   G   T   N   Y   N   N   G   P   V   L   S   R   F   V   Q
ttc tgt ccg tgt tta ata ttg tta cct ggc cat aat agt gct aaa cac gt


a aag gtt tta gat gaa acg ggt gcg aaa aaa gtg gat att gtc gct cac a  < 2350
  K   V   L   D   E   T   G   A   K   K   V   D   I   V   A   H   S
t ttc caa aat cta ctt tgc cca cgc ttt ttt cac cta taa cag cga gtg t

                                                    lipA sequence
                                                          |
gc atg ggg ggc gcg aac aca ctt tac tac ata aaa aat ctg gac ggc gga  < 2400
   M   G   G   A   N   T   L   Y   Y   I   K   N   L   D   G   G
cg tac ccc ccg cgc ttg tgt gaa atg atg tat ttt tta gac ctg ccg cct


aat aaa gtt gca aac gtc gtg acg ctt ggc ggc gcg aac cgt ttg acg ac  < 2450
N   K   V   A   N   V   V   T   L   G   G   A   N   R   L   T   T
tta ttt caa cgt ttg cag cac tgc gaa ccg ccg cgc ttg gca aac tgc tg


a ggc aag gcg ctt ccg gga aca gat cca aat caa aag att tta tac aca t  < 2500
  G   K   A   L   P   G   T   D   P   N   Q   K   I   L   Y   T   S
t ccg ttc cgc gaa ggc cct tgt cta ggt tta gtt ttc taa aat atg tgt a


cc att tac agc agt gcc gat atg att gtc atg aat tac tta tca aga tta  < 2550
   I   Y   S   S   A   D   M   I   V   M   N   Y   L   S   R   L
gg taa atg tcg tca cgg cta tac taa cag tac tta atg aat agt tct aat


gat ggt gct aga aac gtt caa atc cat ggc gtt gga cac atc ggc ctt ct  < 2600
D   G   A   R   N   V   Q   I   H   G   V   G   H   I   G   L   L
cta cca cga tct ttg caa gtt tag gta ccg caa cct gtg tag ccg gaa ga


g tac agc agc caa gtc aac agc ctg att aaa gaa ggg ctg aac ggc ggg g  < 2650
  Y   S   S   Q   V   N   S   L   I   K   E   G   L   N   G   G   G
c atg tcg tcg gtt cag ttg tcg gac taa ttt ctt ccc gac ttg ccg ccc c


                                    SalI            NotI
                                    AccI    HindIII  EagI      EcoRV
                                     |       |       ||         |
gc cag aat acg aat taa tga gag ctc cgt cga caa gct tgc ggc cgc gat  < 2700
   Q   N   T   N   *   *   E   L   R   R   Q   A   C   G   R   D
cg gtc tta tgc tta att act ctc gag gca gct gtt cga acg ccg gcg cta


     XhoI
    li3877I           >6His
     |                  |
atc tct cga gca cca cca cca cca cca ctg aat tat gag tta tgc agt tt  < 2750
I   S   R   A   P   P   P   P   P   L   N   Y   E   L   C   S   L
tag aga gct cgt ggt ggt ggt ggt ggt gac tta ata ctc aat acg tca aa
```

6.3 Perl source code

PERL CGI Program to generate the correlation graph and draw the results table

```
#! /usr/bin/perl
use local::lib;

use strict;
use warnings;
use CGI qw( :standard);
use CGI::Carp qw(fatalsToBrowser);
use File::Temp qw/ tempdir /;
use File::Basename;
use Statistics::LineFit;
use Statistics::TTest;


my $cgi = new CGI;
my $Footer = "BSLA resistance library, Alexander Fulton 2014";

################ load queries for database search################
my @user_sequencerange = split(',',$cgi->param('sequence'));#User defined positions
my $result_limit= $cgi->param('results');     # Upper Limit of results to display
my $dataset  = $cgi->param('dataset');        # Dataset number 1
my $dataset2 = $cgi->param('dataset2');       # Dataset number 2 for correlation
my $filter_sigma = $cgi->param('sigma');      # user selected sigma threshold
my @filter_secstruc = $cgi->param('secstr');  # selected secondary structures
my $filter_surface  = $cgi->param('surface'); # surface residues, yes or no
my $filter_bfactor_sel= $cgi->param('bfactor');# filter for b-factor on/off
my $filter_bfactor  = $cgi->param('bvalue');  # user defined value of b-factor
my $filter_consdataset= $cgi->param('species');# all bacterial or only firmicutes
my $filter_conservation_sel= $cgi->param('con_boundary'); # conservation score
my $filter_conservation = $cgi->param('cons');#user defined value for conservation
my @filter_wtaa = $cgi->param('wtaa');        # list of wtAA to consider
my @filter_mutaa = $cgi->param('subaa');      # list of substitutions to display
my @xValues;                                  # store xvalue in array for linefit
my @yValues;                                  #store y values in array for linefit

my $xyvalues = "";
my $xtitle = "datensatz1";
my $ytitle = "datensatz2";

my $flag_notinstructure = 0;

my $xmax = 0.5;
my $ymax = 0.5;
my $xmin = 0.5;
my $ymin = 0.5;

# Selected the positions to be analyzed
my @ar_selected_positions;
my @ar_selected_positions_bfactor;

for (my $i=0; $i < 181; $i++){
$ar_selected_positions[$i] = 0;
$ar_selected_positions_bfactor[$i] = 0;
}#all positions deselected as default

#search for expression that defines positions to select for search
my @user_single = grep { $_ !~ /\-/ } @user_sequencerange;
foreach my $ar_element (@user_single) {
            $ar_selected_positions[$ar_element] = 1;
}
# search for expression that define a range of positions e.g. 1-181
my @user_ranges = grep { $_ =~ /\-/ } @user_sequencerange;
foreach my $ar_element (@user_ranges) {
```

```
            my @current_range = split('-', $ar_element);
            my $begin = $current_range[0];
            my $repeat = $current_range[1]-$current_range[0];
            for (my $i = $current_range[0]; $i < $current_range[1]; $i++) {
            $ar_selected_positions[$i] = 1;
            }
}
#array contains for each of the positions of the BSLA [postion 1-181]
#the number 1 if it should be analyzed and 0 if not

print $cgi->header(),
      $cgi->start_html()."\n";

### LOAD Jmol files into html resultfile
open( HEADER, "</var/www/virtual/bsla/cgi-bin/corheader.html") or die $!;
foreach my $line_header (<HEADER>) {
print $line_header;
}
close (HEADER);

#print $cgi->h1('Results')."\n";

##### Print a short information about the way results were calculated in the
database
my @array1 =("sds","sb316","tween", "ctab");
my @array2 =("short","long");

foreach my $item (@array1) {#surfactant dataset
    if ($item eq $dataset) {
print $cgi->p('<i>Change in surfactant resistance = A1/A0 - B1/B0</i><br>');
print $cgi->p('<i>AX</i> = Activity of the variant')."\n";
print $cgi->p('<i>BX</i> = Activity of the wildtype')."\n";
print $cgi->p('<i>X0</i> = in buffer')."\n";
print $cgi->p('<i>X1</i> = after 120 min incubation in surfactant')."\n";
    }
}
foreach my $item (@array2) {#substrate dataset
    if ($item eq $dataset) {
print $cgi->p('<i>Change in substrate preference = A1/A0 - B1/B0</i><br>');
print $cgi->p('<i>AX</i> = Activity of the variant')."\n";
print $cgi->p('<i>BX</i> = Activity of the wildtype')."\n";
print $cgi->p('<i>X0</i> = monitoring the hydrolysis rate of
<i>p</i>NPP(C16)')."\n";
print $cgi->p('<i>X1</i> = monitoring the hydrolysis rate of <i>p</i>NPB(C4) or
<i>p</i>NPS(C18)')."\n";
    }
}
if ("thermal" eq $dataset) {#thermal resistance dataset
print $cgi->p('<i>Change in thermal resistance = A1/A0 - B1/B0</i><br>');
print $cgi->p('<i>AX</i> = Activity of the variant')."\n";
print $cgi->p('<i>BX</i> = Activity of the wildtype')."\n";
print $cgi->p('<i>X0</i> = after 5min incubation 50?')."\n";
print $cgi->p('<i>X1</i> = after 30min incubation 50?')."\n";
    }
### End of information on dataset

print $cgi->p('All results below refer to a change in comparision to the wildtype.
<br> Click on the name of the variant to highlight in yellow, or relative to the
change')."\n";

print '<table width = 750 border="1" cellspacing="1" cellpadding="1">';
my $index_experiment;      #used for the array of the csv
my $index_experiment2;     # used for the second dataset for the correlation of
results
my $sigma_value;           # calculate the real value depending on the experiment
my $sigma_value2;          # calculate the real value depending on the experiment
for the dataset2
my $tempstring;            # used as to temporarily save a the experimental results,
rounded for printing
```

```
open( FILE, "</var/www/virtual/bsla/cgi-bin/lib/database.csv") or die $!;
#### print header of the table
    print "  <tr>\n";
              print "    <th>number</th>";
              print "    <th width = 15%>variant</th>";
              #resistance of first dataset
              if ($dataset eq 'sds'){ print '    <th>d(SDS resistance)</th>';

       $index_experiment = 31;#according to csv

       $sigma_value = 0.1 * $filter_sigma;

       $xtitle = "d(SDS resistance)";}##cutoff for sorting
              elsif ($dataset eq 'ctab') { print "    <th>d(CTAB resistance)</th>";

       $index_experiment = 34;

       $sigma_value = 0.1 * $filter_sigma;

       $xtitle = "d(CTAB resistance)";}
       elsif ($dataset eq 'sb316'){ print "    <th>d(SB3-16 resistance)</th>";

       $index_experiment = 40;

       $sigma_value = 0.3 * $filter_sigma;

       $xtitle = "d(SB3-16 resistance)";}
       elsif ($dataset eq 'tween'){ print "    <th>d(Tween 80 resistance)</th>";

       $index_experiment = 37;

       $sigma_value = 0.1 * $filter_sigma;

       $xtitle = "d(Tween 80 resistance)";}
       elsif ($dataset eq 'thermal'){ print "    <th>d(thermal resistance)</th>";

       $index_experiment = 44;

       $sigma_value = 0.1 * $filter_sigma;

       $xtitle = "d(thermal resistance)";}
       elsif ($dataset eq 'short') { print "    <th>d(pNPB ratio)</th>";

       $index_experiment = 45;

       $sigma_value = 0.05 * $filter_sigma;

       $xtitle = "d(pNPB ratio)";}
       elsif ($dataset eq 'long'){ print "    <th>d(pNPS ratio)</th>";

       $index_experiment = 47;

       $sigma_value = 0.05 * $filter_sigma;

       $xtitle = "d(pNPS ratio)";}
                  else { }
       ###################### the same for the second dataset for the correlation
       if ($dataset2 eq 'sds')    { print '    <th>d(SDS resistance)</th>';

       $index_experiment2 = 31;#according to csv

       $sigma_value2 = 0.1 * $filter_sigma;

       $ytitle = "d(SDS resistance)";}##cutoff for sorting
       elsif ($dataset2 eq 'ctab'){ print "    <th>d(CTAB resistance)</th>";

       $index_experiment2 = 34;

       $sigma_value2 = 0.1 * $filter_sigma;
```

```
        $ytitle = "d(CTAB resistance)"}
        elsif ($dataset2 eq 'sb316') { print "    <th>d(SB3-16 resistance)</th>";

        $index_experiment2 = 40;

        $sigma_value2 = 0.3 * $filter_sigma;

        $ytitle = "d(SB3-16 resistance)"}
        elsif ($dataset2 eq 'tween') { print "    <th>d(Tween 80 resistance)</th>";

        $index_experiment2 = 37;

        $sigma_value2 = 0.1 * $filter_sigma;

        $ytitle = "d(Tween 80 resistance)"}
        elsif ($dataset2 eq 'thermal') { print "    <th>d(thermal resistance)</th>";

        $index_experiment2 = 44;

        $sigma_value2 = 0.1 * $filter_sigma;

        $ytitle = "d(thermal resistance)"}
        elsif ($dataset2 eq 'short'){ print "    <th>d(pNPB ratio)</th>";

        $index_experiment2 = 45;

        $sigma_value2 = 0.05 * $filter_sigma;

        $ytitle = "d(pNPB ratio)"}
        elsif ($dataset2 eq 'long'){ print "    <th>d(pNPS ratio)</th>";

        $index_experiment2 = 47;

        $sigma_value2 = 0.05 * $filter_sigma;

        $ytitle = "d(pNPS ratio)"}
                    else { }
               #secstr
               print "    <th>secondary structure</th>";
               #access
               print "    <th>surface accessibility</th>";
               #bfactor
               print "    <th>B-factor</th>";
               #conservation
        if ($filter_consdataset == 0){ print " <th>Conservation (Bacterial)</th>"; }
        if ($filter_consdataset == 9){ print " <th>Conservation (Bacterial)</th>"; }
        if ($filter_consdataset == 1){ print " <th>Conservation (Firmicutes)</th>"; }

        print " </tr>\n";
### end of header for table of results



my $counter = -1;
foreach my $line (<FILE>)  {
        $line  =~ s/\,/./g;
        my @ar_line = split(';',$line); #csv is read line for line
        if($counter == -1) { ++$counter; next; } #first line will be skipped

        if($ar_selected_positions[$ar_line[1]] == 0) { next; }#FILTER POSITIONS

        #$ar_line[$index_experiment]  =~ s/\,/./g; #convert comma to dot
        if($ar_line[$index_experiment] < $sigma_value) { next; }#FILTER SIGMA1
        if($ar_line[$index_experiment2] < $sigma_value2) { next; }#FILTER SIGMA2

        my $check_for_match = 0;
        foreach my $secstr (@filter_secstruc) {
        if ($ar_line[23] eq $secstr) { $check_for_match = 1; } #23 is the field in
```

```
hte csv with secstr
       }#if still equal 0 then there was no match to the selected secstr elements
       if ($check_for_match == 0) { next; }    #FILTER Secondary structure

       if ($filter_surface eq "buried"){ if ($ar_line[25] ne $filter_surface) {
next;}
              } elsif ($filter_surface eq "exposed"){ if ($ar_line[25] ne
$filter_surface) { next;}
       }#FILTER Surface accessibility

       if ($filter_bfactor_sel == 2){ if ($ar_line[24] < $filter_bfactor) { next;}
              } elsif ($filter_bfactor_sel == 1){ if ($ar_line[24] >
$filter_bfactor) { next;}
       }#FILTER B-factor

       if ($filter_consdataset    == 1) {FILTER CONSERVATION
              if ($filter_conservation_sel == 0){ if ($ar_line[49] <
$filter_conservation) { next;}
                     } elsif ($filter_conservation_sel == 1){ if ($ar_line[49] >
$filter_conservation) { next;}
              }else {}      #FILTER Conservation firmicutes
       } elsif ($filter_consdataset     == 0) {
              if ($filter_conservation_sel == 0){ if ($ar_line[50] <
$filter_conservation) { next;}
                     } elsif ($filter_conservation_sel == 1){ if ($ar_line[50] >
$filter_conservation) { next;}
              }             #FILTER Conservation bacterial
       }else {}

       $check_for_match = 0;
       foreach my $wtaa (@filter_wtaa) {
              if ($ar_line[0] eq $wtaa) { $check_for_match = 1; } #0 is the field in
csv with wtaa
       }#if still equal 0 then there was no match to the selected wtaa
       if ($check_for_match == 0) { next; }
       #FILTER wtaa

       $check_for_match = 0;
       foreach my $mutaa (@filter_mutaa) {
              if ($ar_line[2] eq $mutaa) { $check_for_match = 1; } #2 is the field
in csv with mutaa
       }#if still equal 0 then there was no match to the selected mutaa
       if ($check_for_match == 0) { next; }
       #FILTER mutaa

    print "  <tr>\n";
#       print "    <td>$ar_line[3]</td>";
my $i = $counter;
++$i;
print "<td>$i</td>";
$i = 0;
if ($ar_line[1] < 3) {
       print "<td>".$ar_line[3]."*</td>";
       $flag_notinstructure = 1;
}
else {
        print <<"LINKS";
<td><a href="javascript:Jmol.script(myJmol, 'select $ar_line[1];color
yellow;spacefill 23%;wireframe 0.15;zoomto {selected};zoom 200;select
*;')">$ar_line[3]</a>
<a href="javascript:Jmol.script(myJmol, 'select $ar_line[1];color
relativeTemperature;spacefill 23%;wireframe 0.15;zoomto {selected};zoom 200;select
*;')"> (rel)</a></td>
LINKS
}
my $href = "<a href=\"javascript:Jmol.script(myJmol, \\'select $ar_line[1];color
yellow;spacefill 23%;wireframe 0.15;zoomto {selected};zoom 200;select
*;\\')\">$ar_line[3]</a>";
        $tempstring = sprintf "%.2f", $ar_line[$index_experiment];
```

```
        print "    <td>$tempstring</td>";
        $tempstring = 0;
        $tempstring = sprintf "%.2f", $ar_line[$index_experiment2];
        print "    <td>$tempstring</td>";
         $tempstring = 0;

$ar_selected_positions_bfactor[$ar_line[1]]=($ar_line[$index_experiment]+$ar_line[$
index_experiment2])/2;### used to generate the PDB visualization, structure is
loaded with the change in resistance as bfactor
        $xyvalues .= "[$ar_line[$index_experiment],$ar_line[$index_experiment2],
'null' , '$href'],";
        push (@xValues, $ar_line[$index_experiment]);
        push (@yValues, $ar_line[$index_experiment2]);
        if ($ar_line[$index_experiment] > $xmax) {   $xmax =
$ar_line[$index_experiment];
        }if ($ar_line[$index_experiment2] > $ymax) {        $ymax =
$ar_line[$index_experiment2];
        }#determine the yvalue for graph max
              if ($ar_line[$index_experiment] < $xmin) {   $xmin =
$ar_line[$index_experiment];
        }if ($ar_line[$index_experiment2] < $ymin) {        $ymin =
$ar_line[$index_experiment2];
        }#determine the xyalue for graph max
        print "    <td>$ar_line[23]</td>";
        print "    <td>$ar_line[25]</td>";
        print "    <td>$ar_line[24]</td>";
       if ($filter_consdataset == 1)                { print "
<td>$ar_line[49]</td>"; }
       if ($filter_consdataset == 0)                { print "
<td>$ar_line[50]</td>"; }
       if ($filter_consdataset == 9)                { print "
<td>$ar_line[50]</td>"; }
       print " </tr>\n";
    if (++$counter == $result_limit){
      print "</td></tr></table>";
      last;
    }

}
close(FILE);

if ($flag_notinstructure == 1) { print "*residue is not defined in crystal strucure
(PDB:1I6W) <br><br><br>"; }

my $lineFit = Statistics::LineFit->new(0);
$lineFit->setData (\@xValues, \@yValues) or die "Invalid data";
my ($intercept, $slope) = $lineFit->coefficients();
defined $intercept or die "Can't fit line if x values are all equal";
my $rSquared = $lineFit->rSquared();
my $meanSquaredError = $lineFit->meanSqError();
my ($tStatIntercept, $tStatSlope) = $lineFit->tStatistics();
$slope = sprintf "%.2f", $slope;
$intercept= sprintf "%.2f", $intercept;
$rSquared = sprintf "%.4f", $rSquared;
print "<table width = 300px><tr><td>";
print "Slope = ".$slope."</td><td>";
print "Intercept =".$intercept."</td><td>";
print "R² =".$rSquared."</td></tr></table>";

       my $ttest = new Statistics::TTest;
       $ttest->set_significance(95);
       $ttest->load_data(\@xValues,\@yValues);
       my $t    = $ttest->t_statistic;
       my $df   = $ttest->df;
       my $prob = $ttest->{t_prob};
       my $test = $ttest->null_hypothesis();

print "<table width = 300px><tr><td>";
print "t=$t (df = $df)</td><td>";
```

```
print "p-value = $prob</td><td>";
print "Null hypothesis is $test</td></tr></table>";

print "</table>\n";
print <<"RGRAPH";

 <script>

            var scatter = new RGraph.Scatter({
                id: 'cvs',
                data: [
                       $xyvalues
                      ],
                options: {
                    xmax: $xmax,
                                xmin: $xmin,
                                ymax: $ymax,
                                ymin: $ymin,
                                numxticks: '4',
                                numyticks: '5',
                                scale: {
                                decimals: '2',
                                },
                                xscale: {
                                self: 'true',
                                decimals: '2',
                                },
                                title: {
                                self: 'R²= $rSquared',
                                y: 50,
                                x: 120,
                                xaxis : {
                                       self: '$xtitle',
                                       y: 335,
                                       },
                                yaxis : {
                                       self: '$ytitle',
                                       x: 20,
                                       },
                                },
                                gutter: {
                        left: 70,
                                       bottom: 50,
                    },
                }
            }).draw()

    </script>
RGRAPH



##########################################Generate the PDB for JSmol

my $file = "/var/www/virtual/bsla/html/data/1i6w.PDB";
my $newlevel = File::Temp->safe_level( File::Temp::HIGH);
    die "Could not change to high security"
    if $newlevel != File::Temp::HIGH;
$File::Temp::KEEP_ALL = 1;
my $tmp = File::Temp->new(       TEMPLATE => 'tempresXXXXX',
                           DIR => '/var/www/virtual/bsla/html/data/temporaryPDB/',
                           SUFFIX => '.PDB');
#my $tmpfile = $tmp->filename;
my($tempfile, $dirs, $suffix) = fileparse($tmp->filename, qr/\.[^.]*/);
chmod 0644, $tmp->filename or die "Couldn't chmod $tmp->filename: $!";

#my $resultfile = "/var/www/virtual/bsla/html/data/temporaryPDB/test.PDB";
open (FILEPDB, $file) or die "Failed to open $file";
#open (OUTPDB, ">$tmp") or die "Failed to open $tmp";
```

```
my $resno;
my $old_bf;
my $new_bf;
my $new;

while (<FILEPDB>)          # read each line of the PDB file
{
       if (/^ATOM/) # look for lines that start with ATOM
              {
                     my @line=split;


                     chomp($resno=$line[5]);
                     $old_bf = $line[10];
                     $new_bf=$ar_selected_positions_bfactor[$resno];
                     $new_bf = sprintf("%.2f", $new_bf);


                     $old_bf = "1.00 $line[10]";
                     $new_bf= "1.00 $ar_selected_positions_bfactor[$resno]";

                     $new = $_;
                     $new =~ s/$old_bf/$new_bf/;
                     $old_bf = "1.00  $line[10]";
                     $new =~ s/$old_bf/$new_bf/;
                     print $tmp "$new";
                   }
       else
       {                                                    # TER signals end of chain ...
                print $tmp "$_";
       }                                                    # ... store chain sequence and
start a new one
}

#close (OUTPDB);
close (FILEPDB);

my $query = new CGI;
$query->import_names("R");

print "Query summary";
print '<table border="1" cellspacing="0" cellpadding="0">' . "\n";
foreach ($query->param())
{
       my $key = $_;
       my @array = $query->param($_);
       if (@array > 1)
       {

              print "<tr><td>";
              print $_;
              print "</td><td>";

              foreach my $value (@array)
       {
                     print  "$value, ";
       }
              print "</td></tr>";
       }
       else
       {
              print "<tr><td>";
              print $_;
              print "</td><td>";
              print @array;
              print "</td></tr>";
       }
```

```
}
print "</table>";

print "</body></html>";



print <<"ENDE";
<script type="text/javascript">

Jmol.loadFile(myJmol,
'http://bsla.nunki.uberspace.de/data/temporaryPDB/$tempfile.pdb',';if (_is2D) {set
hermitelevel 0} else {set hermitelevel 6;set ribbonAspectRatio 4};set platformSpeed
5;cartoons only;select temperature=0;color [xA6A6AB]; select temperature>0;color
relativetemperature; spacefill 29%;wireframe 0.2; zoom 130;moveto /* time,
axisAngle */ 1.0 { -668 600 441 144.93} /* zoom, translation */  113.04 0.0 0.0  /*
center, rotationRadius */ {-10.177 25.215 14.471} 27.640116811390982 /* navigation
center, translation, depth */ {0 0 0} 0 0 0 /* cameraDepth, cameraX, cameraY */
3.0 0.0 0.0; spin ON;select all;');
</script>



  </div>
</body>
</div><!-- .entry-content -->


      </div>

</article><!-- #post-35 -->


      </div><!-- #content .site-content -->
</div><!-- #primary .content-area -->


<div id="secondary" class="widget-area" role="complementary">
                    </div><!-- #secondary .widget-area -->

                                  </div><!-- .full-container -->
      </div><!-- #main .site-main -->



      <footer id="colophon" class="site-footer" role="contentinfo">

      <div id="footer-widgets" class="full-container">
            <aside id="nav_menu-3" class="widget widget_nav_menu"><h3
class="widget-title"></h3><div class="menu-impressum-container"><ul id="menu-
impressum" class="menu"><li id="menu-item-50" class="menu-item menu-item-type-
post_type menu-item-object-page menu-item-50"><a
href="http://bsla.nunki.uberspace.de/wordpress/contact/">Contact</a></li>
<li id="menu-item-51" class="menu-item menu-item-type-post_type menu-item-object-
page menu-item-51"><a
href="http://bsla.nunki.uberspace.de/wordpress/impressum/">About</a></li>
</ul></div></aside> </div><!-- #footer-widgets -->

                    <div id="site-info">
                    Copyright Alexander Fulton (C) 2014           </div><!-- #site-
info -->

      <div id="theme-attribution">A <a href="http://siteorigin.com">SiteOrigin</a>
Theme</div>
</footer><!-- #colophon .site-footer -->

</div><!-- #page-wrapper -->
```

```
<a href="#" id="scroll-to-top"></a>
</body>
</html>
ENDE

print $cgi->hr({-noshade => undef, -size => '1'})."\n",
      $cgi->p({-style => 'color:blue'}, $cgi->em($Footer))."\n",
      $cgi->end_html();
```

6.4 Detergent and thermal resistance of each variant

Exemplary calculation of screening results for variant A1C

The change in comparison to the wild type was calculated for each variant based on the results of a measurement of residual activity as shown in the following for the first variant in the database, variant 'A1C'.

Library plate 001:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	WT	Lys	Leu	Thr	Gly	Arg	Gly	Gln	Thr	wt	wt	Arg
B	Arg	wt	Met	His	stop	Pro	wt	Trp	Thr	Arg	Asn	Leu
C	wt	wt	Tyr	Leu	Lys	stop	Val	Ile	Tyr	His	Ser	Pro
D	wt	wt	Ser	wt	Thr	WT	Pro	Val	wt	Thr	Arg	wt
E	His	Leu	Leu	Pro	Lys	Val	BLANK	His	His	Ser	Cys	Glu
F	Ile	stop	Arg	Leu	wt	Cys	Trp	wt	Ser	Ser	Gly	Arg
G	His	Leu	Val	wt	Ser	Arg	Val	wt	Trp	Leu	wt	Pro
H	Gly	Val	Tyr	wt	Thr	Thr	wt	Leu	Gly	wt	Gly	WT

Figure 6-1 Results from screening of BSLA Library plate for positions 001.

The figure depicts the 96 wells of the MTP from the SSM library plate for position 001. The first amino acid codon of BSLA (Ala) was site saturated, the provided amino acid in each well represents the manually curated substitution (or stop codon) at position 1 in the clone inside of the well.

Sequencing of the first library plate shows that the mutagenesis resulted in two Cys substitutions (well E11 and F6) which will be analyzed in following. The 22 wild type clones on this plate were used for normalization of the results.

Detergent resistance

1. Raw activity

Table 6-1 Slopes from the residual activity measurement in Detergent solutions ($\Delta O.D._{410nm}*min^{-1}$)

	*p*NPB activity				SDS (mM)			CTAB (mM)			Tween 80 (mM)			SB3-16 (mM)		
	1	2	3	4	0.78	0.39	0.20	0.6	0.3	0.16	1.71	0.86	0.43	0.18	0.09	0.04
E11	0.19	0.20	0.30	0.22	0.39	0.11	0.02	0.18	0.09	0.13	0.15	0.19	0.17	0.26	0.22	0.16
F6	0.49	0.45	0.42	0.31	0.40	0.10	0.01	0.20	0.18	0.15	0.24	0.26	0.22	0.41	0.43	0.24

Each of the assays was performed with one buffer control sample of each variant, which results in four *p*NPB activity measurements along with the residual activity in each of the detergents, which can either have activating or inactivating effects on the hydrolysis reaction. The values shown in Table 6-2 are the $\Delta O.D._{410nm}*min^{-1}$ from a 3 minute measurement after the addition of substrate. Prior to the activity measurement, all samples were incubated either in buffer or in buffer and detergent at the indicated concentration (methods 2.9.10). The activity was always corrected for the rate of autohydrolysis using the Blank in well E7.

2. Mean residual activity

The mean value of the four *p*NPB measurements is used to calculate the residual activity of both clones E11 and F6. Afterwards these two residual activity values for each of the 12 conditions (three concentrations for each of the four detergents) was used to calculate the mean value shown in Table 6-2.

Table 6-2 Mean value of the residual activity of each experiment and detergent concentration

	SDS (mM)			CTAB (mM)			Tween 80 (mM)			SB3-16 (mM)		
	0.78	**0.39**	**0.20**	**0.6**	**0.3**	**0.16**	**1.71**	**0.86**	**0.43**	**0.18**	**0.09**	**0.04**
A1C (mean)	1.1	0.3	0.0	0.5	0.3	0.4	0.5	0.6	0.5	0.9	0.8	0.5

3. Change compared to the wild type

Finally, the mean value of the residual activity from the wild type (calculated in the same way as the variant) is subtracted from the mean value of the variant to allow a comparison of how much the residual activity has changed through the substitution (Tab. 6-3). This value is used for the generation of the representations that were shown and discussed in this thesis.

Table 6-3 Change of the mean value compared to the wild type clones

	SDS (mM)			CTAB (mM)			Tween 80 (mM)			SB3-16 (mM)		
	0.78	**0.39**	**0.20**	**0.6**	**0.3**	**0.16**	**1.71**	**0.86**	**0.43**	**0.18**	**0.09**	**0.04**
A1C (mean)	1.1	0.3	0.0	0.5	0.3	0.4	0.5	0.6	0.5	0.9	0.8	0.5
WT (mean)	1.1	0.2	0.0	0.4	0.3	0.3	0.5	0.5	0.4	0.8	0.9	0.7
Δres Act.	**0.0**	**0.1**	**0.0**	**0.2**	**0.0**	**0.1**	**0.0**	**0.1**	**0.1**	**0.1**	**- 0.1**	**- 0.1**

Substrate preference

The activity measurement was performed at a later point than the detergent screening, in between the samples were stored at -20°C. The samples were thawed and diluted again for the measurement of activity against substrate solutions containing *p*NPB, *p*NPP or *p*NPS (methods 2.9.9). The $\Delta O.D._{410nm}*min^{-1}$ from a three minute measurement is shown in Table 6-4 and saved to the database.

Table 6-4 Activity measurements ($\Delta O.D._{410nm}*min^{-1}$)

	Substrate		
	***p*NPB**	***p*NPP**	***p*NPS**
E11	0.06	0.08	0.21
F6	0.09	0.12	0.28
Mean	0.07	0.10	0.24

Thermal resistance

Similar to the calculation of the residual activity in detergent solutions, the thermal resistance is calculated on the basis of residual activities measured after incubation at 50°C. Three different time points are recorded as shown in first block of values in Table 6-4.

Next, the relative values for each variant are calculated and the mean value of the residual activity of the wild type is subtracted from the mean residual activity of the variant A1C.

Table 6-4 Calculation of change in thermal resistance for variant A1C

Raw activity		**50°C incubation**		
	25°C	**5 min**	**15 min**	**30 min**
E11	0.28	0.50	0.20	0.11
F6	0.47	0.54	0.30	0.08
Relative activity				
rel. (E11)	1.00	1.76	0.71	0.37
rel. (F6)	1.00	1.15	0.64	0.16
Mean (A1C)		1.46	0.68	0.27
Mean (WT)		1.17	0.71	0.28
Relative change				
Δres.Act.		**0.28**	**-0.04**	**-0.01**

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
A1C	0,00	0,08	0,02	0,17	0,04	0,10	0,03	0,15	0,13	0,07	-0,06	-0,14	0,30	-0,03	-0,01	0,07	0,10	0,24	0,38
A1D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
A1E	0,01	0,09	0,10	0,02	0,07	0,02	-0,13	0,07	0,09	0,07	-0,03	-0,12	0,27	0,01	0,02	0,08	0,11	0,25	0,39
A1F	0,40	-0,10	-0,02	0,15	0,16	0,27	0,01	0,10	0,24	0,11	0,04	-0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17
A1G	0,15	0,02	0,01	-0,01	0,03	0,00	-0,02	0,03	0,03	0,29	0,14	-0,05	-0,05	0,06	0,00	0,03	0,03	0,10	0,33
A1H	0,02	-0,01	0,00	0,00	0,02	-0,01	0,02	0,01	0,04	0,03	0,00	-0,11	0,06	-0,16	-0,06	0,05	0,07	0,18	0,35
A1I	0,13	-0,01	-0,01	-0,06	-0,04	-0,03	0,09	0,01	0,14	-0,26	-0,17	-0,24	0,12	-0,02	-0,03	0,03	0,05	0,15	0,26
A1K	-0,02	-0,03	0,00	-0,02	-0,01	-0,01	0,04	-0,01	-0,03	0,11	0,21	0,21	-0,11	-0,06	-0,09	0,07	0,09	0,22	0,46
A1L	-0,03	-0,03	0,00	-0,02	-0,02	-0,04	0,04	-0,04	0,02	-0,12	-0,26	-0,16	-0,04	-0,06	-0,06	0,03	0,04	0,14	0,28
A1M	0,52	-0,05	0,01	0,04	0,13	-0,01	0,09	0,08	0,34	0,41	0,64	0,53	0,07	0,21	0,00	0,02	0,01	0,09	0,18
A1N	0,11	-0,01	0,02	0,03	0,03	-0,03	0,03	0,15	0,24	0,14	0,38	0,19	0,15	-0,05	-0,03	0,02	0,01	0,08	0,21
A1P	0,20	-0,01	0,02	0,06	0,03	0,00	0,03	0,05	0,05	0,24	0,01	0,12	-0,19	0,14	0,00	0,07	0,12	0,25	0,47
A1Q	-0,01	-0,04	0,01	-0,05	0,02	-0,02	-0,19	-0,06	-0,01	0,00	0,29	0,42	-0,01	0,07	0,03	0,05	0,06	0,18	0,44
A1R	0,04	-0,06	-0,01	-0,03	-0,02	-0,04	-0,03	-0,01	0,03	0,02	0,03	0,17	-0,02	-0,11	-0,01	0,04	0,05	0,15	0,29
A1S	-0,01	-0,02	0,00	0,01	-0,01	-0,03	0,11	0,04	0,09	-0,02	0,06	-0,11	0,26	-0,11	-0,08	0,04	0,07	0,18	0,31
A1T	0,16	0,00	0,00	0,05	0,02	0,04	0,01	0,05	0,07	0,31	0,29	0,30	-0,03	0,13	0,02	0,10	0,15	0,32	0,56
A1V	-0,02	0,01	0,01	-0,02	0,02	-0,03	0,02	0,02	0,00	0,13	-0,04	-0,02	-0,01	-0,13	-0,07	0,06	0,09	0,23	0,41
A1W	-0,24	-0,07	0,02	0,01	-0,06	0,02	0,03	0,09	0,05	-0,29	-0,22	-0,10	-0,08	-0,17	-0,10	0,02	0,03	0,11	0,18
A1Y	-0,06	-0,02	0,00	-0,01	-0,01	-0,06	0,08	-0,05	-0,04	-0,12	-0,09	0,01	0,01	0,00	-0,02	0,03	0,05	0,15	0,43
E2A	-0,05	-0,05	-0,01	-0,03	0,01	0,01	-0,01	-0,02	-0,04	-0,01	-0,04	-0,03	0,00	-0,01	-0,03	0,01	0,00	0,03	0,18
E2C	0,44	-0,12	-0,02	0,06	0,11	0,00	0,23	0,23	0,49	0,41	0,24	-0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
E2D	0,00	-0,12	-0,02	-0,04	-0,01	-0,01	0,02	0,02	-0,02	-0,05	0,02	-0,07	0,03	-0,09	-0,08	0,01	-0,01	0,00	0,16
E2F	0,14	0,64	0,05	0,15	0,19	0,16	0,10	0,11	0,07	0,44	0,43	0,35	0,22	0,16	0,03	0,04	0,02	0,07	0,23
E2G	-0,02	-0,09	0,00	-0,01	0,01	-0,01	-0,05	-0,04	-0,06	-0,03	-0,03	-0,09	0,01	-0,01	-0,01	0,01	0,00	0,01	0,15
E2H	-0,12	-0,03	-0,01	-0,02	0,01	0,01	-0,04	0,01	-0,05	0,03	0,05	-0,01	0,00	-0,02	-0,01	0,01	0,00	0,04	0,16
E2I	-0,21	-0,35	0,08	-0,04	-0,03	-0,03	-0,16	-0,10	-0,18	-0,18	-0,16	-0,11	0,01	0,01	-0,01	0,01	0,01	0,01	0,13
E2K	0,57	-0,04	0,00	-0,04	-0,10	-0,06	0,13	0,27	0,69	0,62	0,20	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09
E2L	-0,11	0,17	-0,01	0,02	0,04	0,03	-0,03	0,05	0,01	0,17	0,11	0,15	0,14	0,05	-0,02	0,02	0,00	0,04	0,18
E2M	-0,06	0,09	0,05	0,02	0,02	0,01	-0,06	0,03	0,08	0,07	0,06	0,10	0,06	0,02	-0,01	0,02	0,01	0,05	0,20
E2N	-0,04	-0,13	-0,01	-0,05	-0,01	-0,03	-0,01	-0,09	-0,14	0,04	-0,06	-0,10	-0,05	-0,21	-0,20	0,01	0,00	0,02	0,16
E2P	-0,06	-0,08	-0,01	-0,03	0,00	0,00	-0,03	-0,03	-0,03	0,02	0,00	-0,03	0,02	0,03	0,05	0,01	-0,01	0,02	0,15
E2Q	0,89	-0,07	0,00	0,02	-0,03	-0,03	0,38	0,55	0,71	1,46	1,27	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
E2R	-0,08	-0,08	0,00	-0,03	-0,01	0,00	0,04	0,01	-0,06	-0,04	0,01	-0,04	-0,03	-0,03	-0,03	0,01	0,00	0,03	0,15
E2S	-0,09	-0,07	-0,03	-0,01	0,00	-0,01	0,04	0,01	-0,02	-0,01	0,01	-0,05	-0,02	0,03	0,05	0,01	0,01	0,01	0,15
E2T	-0,01	0,12	0,04	0,01	0,02	0,02	-0,06	0,11	0,05	0,17	0,22	0,25	0,05	0,02	-0,02	0,02	0,01	0,03	0,21
E2V	-0,01	0,13	0,01	0,01	0,02	0,01	-0,05	0,12	0,02	0,31	0,02	0,06	-0,01	-0,01	0,00	0,01	0,01	0,05	0,20
E2W	0,12	-0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	-0,01	0,06	0,09	0,01	-0,05	-0,04	0,01	0,00	0,04	0,20
E2Y	0,56	-0,17	-0,02	0,00	-0,06	0,01	0,14	0,22	-0,10	0,00	0,13	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17
H3A	-0,31	-0,12	0,02	-0,07	-0,02	-0,06	-0,07	-0,05	-0,13	-0,18	0,01	-0,09	0,55	-0,06	-0,15	0,09	0,16	0,34	0,47
H3C	0,15	-0,22	-0,04	0,08	0,25	0,26	-0,01	-0,05	0,00	0,30	0,08	-0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26
H3D	0,11	0,15	-0,01	0,02	0,10	0,04	0,05	0,01	-0,02	0,15	0,29	0,12	0,18	-0,09	-0,17	0,08	0,16	0,33	0,43
H3E	-0,02	-0,12	0,00	0,08	0,11	0,07	0,27	0,25	0,07	0,34	0,57	0,25	-0,09	0,03	-0,11	0,14	0,32	0,41	0,44
H3F	-0,09	-0,07	0,04	-0,02	-0,02	-0,11	0,00	0,01	-0,16	0,36	0,25	0,23	0,60	-0,06	-0,15	0,08	0,15	0,28	0,33
H3G	-0,04	-0,03	-0,02	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,01	0,04	-0,07	-0,06	0,31	-0,06	-0,15	0,10	0,18	0,30	0,39
H3I	-0,16	-0,03	0,02	-0,10	-0,06	-0,05	-0,01	0,05	-0,14	-0,14	-0,35	-0,20	-0,17	-0,34	-0,08	0,13	0,27	0,40	0,55
H3K	0,05	-0,24	-0,07	-0,13	-0,17	-0,14	0,02	-0,02	-0,02	0,26	0,05	0,19	0,26	-0,03	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,36
H3L	0,02	-0,02	0,00	0,01	0,07	-0,01	0,12	0,12	0,06	-0,05	0,02	0,08	0,25	-0,27	-0,23	0,10	0,21	0,36	0,39
H3M	0,14	-0,42	-0,02	0,00	-0,03	0,06	-0,09	-0,16	-0,13	-0,07	0,14	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
H3N	0,05	-0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,07	-0,04	-0,11	-0,13	-0,02	0,36	0,12	-0,03	0,12	0,19	0,33	0,44
H3P	-0,10	-0,20	-0,02	-0,07	-0,02	-0,04	-0,09	-0,01	-0,14	-0,32	-0,26	-0,22	0,35	-0,28	-0,18	0,10	0,17	0,32	0,44
H3Q	0,47	-0,18	-0,03	0,01	0,02	0,03	0,10	0,19	0,15	0,78	0,61	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16
H3R	-0,19	-0,13	0,00	-0,06	-0,05	-0,03	0,00	0,05	-0,05	0,06	-0,10	0,15	0,04	-0,17	-0,13	0,12	0,21	0,33	0,53
H3S	0,08	-0,04	0,00	0,02	0,05	0,01	0,04	0,07	-0,04	-0,06	-0,14	-0,10	0,22	-0,14	-0,17	0,10	0,20	0,35	0,40
H3T	-0,07	-0,12	0,00	-0,03	0,03	-0,02	0,05	0,04	-0,02	-0,26	-0,10	-0,11	0,41	-0,26	-0,18	0,11	0,22	0,36	0,42
H3V	-0,01	0,02	0,03	-0,04	0,02	-0,02	0,02	0,07	-0,09	-0,10	-0,07	0,25	-0,04	-0,06	-0,01	0,12	0,24	0,38	0,52
H3W	-0,41	-0,23	-0,04	-0,09	-0,05	-0,06	0,02	-0,14	-0,16	-0,05	-0,37	-0,20	1,03	-0,41	-0,25	0,04	0,06	0,18	0,24
H3Y	0,04	-0,11	-0,02	-0,02	0,02	-0,06	0,08	0,01	-0,02	-0,34	-0,22	-0,02	0,96	0,04	-0,19	0,05	0,09	0,22	0,29
N4A	-0,12	0,04	0,00	0,02	0,05	0,04	0,02	-0,05	0,02	-0,02	0,06	0,09	0,54	0,53	0,13	0,10	0,19	0,38	0,35
N4C	-0,18	-0,08	-0,01	-0,02	-0,02	-0,01	-0,02	-0,07	-0,06	-0,10	-0,24	-0,26	0,86	0,36	-0,09	0,08	0,14	0,31	0,26
N4D	-0,91	-0,45	-0,04	-0,21	-0,18	-0,25	-0,08	-0,18	0,11	-0,23	-0,35	-0,28	1,10	0,04	-0,11	0,02	0,02	0,07	0,13
N4E	-0,31	0,20	0,10	-0,02	0,03	0,08	0,02	0,02	-0,03	-0,09	0,04	-0,03	-1,01	-0,77	-0,32	0,12	0,26	0,41	0,36
N4F	0,21	-0,38	-0,04	-0,04	-0,07	-0,12	-0,20	-0,09	-0,08	0,16	0,24	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
N4G	-0,09	-0,06	0,01	-0,06	-0,05	0,01	-0,01	-0,04	-0,05	0,07	0,08	-0,08	0,41	0,27	0,02	0,09	0,16	0,25	0,31
N4H	-0,20	-0,19	-0,01	-0,06	-0,03	-0,03	-0,04	-0,05	0,02	-0,08	-0,19	-0,07	0,84	0,21	-0,05	0,05	0,08	0,21	0,26
N4I	-0,36	-0,04	-0,01	-0,13	-0,07	-0,06	-0,01	-0,16	0,04	-0,08	-0,31	-0,24	1,35	0,12	-0,10	0,04	0,07	0,21	0,20
N4K	-0,35	-0,09	-0,02	-0,04	0,02	-0,09	-0,12	-0,11	0,03	-0,11	-0,26	0,04	-0,45	0,01	0,01	0,15	0,31	0,47	0,56
N4L	-0,34	-0,04	0,03	-0,12	-0,11	-0,10	-0,04	-0,14	0,00	-0,33	-0,40	-0,29	0,85	-0,01	-0,08	0,04	0,06	0,16	0,21
N4M	-0,20	-0,01	-0,01	0,00	-0,03	0,03	-0,07	0,00	-0,02	0,05	-0,01	-0,20	1,05	0,36	0,03	0,08	0,14	0,30	0,25
N4P	-0,15	-0,15	0,00	-0,05	-0,02	0,01	0,06	0,00	-0,06	-0,02	-0,02	0,09	-0,15	-0,03	-0,10	0,11	0,19	0,37	0,40
N4Q	-0,24	0,08	0,00	-0,15	-0,01	0,01	-0,03	-0,06	-0,02	-0,06	0,08	-0,12	-0,63	-0,02	-0,04	0,14	0,25	0,40	0,42
N4R	-0,05	-0,23	0,00	-0,07	-0,10	-0,03	-0,03	-0,04	0,08	0,12	-0,08	0,09	0,25	-0,05	-0,10	0,08	0,11	0,27	0,38
N4S	-0,02	0,06	0,01	-0,03	0,03	0,06	-0,04	0,01	0,07	0,29	-0,12	0,19	-0,41	0,17	-0,02	0,15	0,30	0,43	0,47
N4T	-0,22	-0,14	0,02	-0,04	-0,12	-0,02	-0,02	-0,07	-0,04	0,07	0,10	-0,04	0,08	0,12	0,00	0,11	0,16	0,32	0,39
N4V	-0,31	-0,17	0,00	-0,10	-0,07	-0,07	0,02	-0,08	-0,11	-0,14	-0,16	-0,21	0,63	-0,25	-0,15	0,06	0,10	0,24	0,23
N4W	-0,60	-0,31	-0,03	-0,23	-0,20	-0,15	-0,18	-0,14	0,10	-0,33	-0,47	-0,38	0,42	-0,36	-0,23	0,02	0,04	0,10	0,15
N4Y	-0,44	-0,16	0,01	-0,10	-0,07	-0,14	-0,14	-0,19	0,03	-0,27	-0,28	-0,35	0,63	-0,19	-0,13	0,05	0,07	0,19	0,23
P5A	0,25	0,35	0,01	-0,04	0,06	0,11	0,11	-0,01	0,02	0,00	0,11	-0,07	0,99	0,68	0,22	0,11	0,22	0,32	0,23
P5C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,07	0,07
P5D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,05	0,05
P5E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,05
P5F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,04	0,04
P5G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,05	0,00	0,07
P5H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,05	0,12	0,08
P5I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,06	0,14	0,10
P5K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,05	0,03
P5L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,07	0,08
P5M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,04	0,05
P5N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,05	0,10	0,07
P5Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,05
P5R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,05	0,06
P5S	-0,27	-0,08	0,06	-0,30	-0,21	-0,16	-0,02	0,00	0,15	0,15	-0,08	-0,20	1,26	0,66	0,19	0,03	0,05	0,15	0,12
P5T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,05	0,12	0,08
P5V	-0,35	-0,21	-0,02	-0,18	-0,19	-0,10	0,02	-0,09	-0,05	0,08	-0,01	-0,11	1,25	0,06	-0,18	0,07	0,11	0,24	0,17
P5W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,02
P5Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,05	0,05
V6A	-0,37	-0,03	-0,01	-0,08	-0,13	-0,08	0,03	-0,10	-0,10	-0,06	-0,02	-0,10	0,45	0,16	0,04	0,08	0,17	0,29	0,36
V6C	0,01	0,21	0,04	0,04	0,00	0,04	0,09	-0,02	0,09	-0,04	-0,05	-0,13	-0,20	0,13	0,24	0,08	0,22	0,32	0,46
V6D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,03
V6E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
V6F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
V6G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,03	0,10
V6H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	-0,01	0,00	0,04
V6I	0,23	-0,30	-0,04	-0,03	-0,04	-0,07	0,30	0,12	0,19	0,65	0,18	-0,11	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,11
V6K	-0,18	-0,29	-0,05	-0,02	-0,16	-0,17	0,35	0,16	0,22	1,28	1,08	0,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
V6L	-0,37	-0,17	0,00	-0,04	-0,05	-0,03	-0,01	-0,10	-0,03	-0,19	-0,07	-0,12	0,48	-0,39	-0,28	0,09	0,11	0,27	0,40
V6M	-0,52	-0,23	0,06	-0,10	-0,11	-0,11	-0,04	-0,04	-0,12	-0,07	0,15	-0,01	0,02	-0,70	-0,28	0,10	0,14	0,32	0,47
V6N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,05
V6P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
V6Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,04
V6R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
V6S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,05	0,09
V6T	-0,26	0,16	0,03	-0,03	0,00	0,00	0,05	-0,01	-0,02	-0,11	-0,06	-0,29	-0,71	-0,45	0,07	0,15	0,27	0,36	0,62
V6W	-0,33	0,07	-0,02	-0,07	-0,03	-0,04	0,01	-0,08	-0,11	-0,16	-0,23	-0,18	0,11	0,04	-0,04	0,09	0,15	0,26	0,28
V6Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	-0,01	0,00	0,03
V7A	-0,68	0,03	0,01	-0,17	-0,15	-0,12	0,09	-0,09	-0,09	-0,43	-0,33	-0,19	0,86	0,04	0,00	0,04	0,05	0,15	0,16
V7C	-0,60	-0,11	-0,01	-0,14	-0,12	-0,02	0,02	-0,14	-0,16	-0,16	-0,26	-0,18	0,87	-0,09	-0,30	0,02	0,02	0,13	0,19
V7D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
V7E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,05
V7F	-0,78	-0,21	0,00	-0,26	-0,18	-0,21	-0,04	-0,14	0,01	-0,39	-0,40	-0,36	0,67	0,00	-0,18	0,03	0,03	0,12	0,14
V7G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,05
V7H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
V7I	-0,35	-0,12	-0,03	-0,09	-0,04	-0,10	0,06	-0,04	0,07	-0,17	-0,10	-0,04	0,30	-0,25	-0,36	0,07	0,11	0,21	0,22
V7K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
V7L	-0,71	-0,24	-0,02	-0,13	-0,10	-0,13	-0,03	-0,22	-0,10	-0,46	-0,40	-0,27	0,63	-0,35	-0,35	0,05	0,05	0,19	0,20
V7M	-0,63	-0,17	-0,04	-0,16	-0,05	-0,06	-0,06	-0,18	-0,18	-0,10	-0,19	-0,14	-0,09	-0,09	-0,16	0,10	0,18	0,31	0,41
V7N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,03
V7P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,04
V7Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,03
V7R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,03
V7S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,03
V7T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,02	0,07	0,09
V7W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	-0,01	0,01	0,02
V7Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,03
M8A	-0,59	-0,27	-0,03	-0,09	-0,08	-0,03	0,01	-0,11	-0,17	-0,11	0,03	-0,10	0,01	-0,01	-0,02	0,11	0,17	0,31	0,35
M8C	-0,40	0,08	-0,01	-0,08	-0,07	-0,06	-0,02	-0,15	-0,07	-0,06	-0,29	-0,13	-0,18	-0,43	-0,35	0,12	0,26	0,28	0,40
M8D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,00	0,00	0,02
M8E	-1,12	-0,33	0,01	-0,34	-0,42	-0,32	0,11	-0,30	-0,23	-1,22	-1,18	-0,79	0,25	-0,57	-0,54	0,01	0,03	0,07	0,10
M8F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
M8G	-0,79	-0,33	-0,03	-0,26	-0,23	-0,18	-0,02	-0,25	-0,15	-0,54	-0,74	-0,52	-0,02	-0,54	-0,31	0,04	0,07	0,13	0,23
M8H	-0,75	-0,08	0,01	-0,25	-0,15	-0,16	0,13	-0,16	-0,16	-0,68	-0,59	-0,47	0,09	-0,03	-0,18	0,04	0,05	0,18	0,24
M8I	-1,40	-0,44	0,01	-0,40	-0,36	-0,33	-0,23	-0,46	-0,42	-0,66	-0,90	-0,56	-0,12	-0,95	-0,34	0,04	0,05	0,15	0,23
M8K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
M8L	-0,42	-0,19	0,00	-0,09	-0,12	-0,02	0,06	-0,12	-0,02	-0,51	-0,33	0,05	0,09	-0,20	-0,07	0,06	0,06	0,18	0,32
M8N	-0,98	-0,31	-0,03	-0,35	-0,32	-0,30	-0,16	-0,29	-0,13	-0,80	-0,81	-0,66	-0,15	-0,42	-0,17	0,01	0,02	0,06	0,10
M8P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
M8Q	-0,82	-0,34	-0,04	-0,24	-0,19	-0,22	-0,06	-0,33	-0,14	-0,68	-0,45	-0,47	0,13	-0,29	-0,17	0,03	0,05	0,11	0,18
M8R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,04
M8S	-0,96	-0,23	-0,03	-0,23	-0,17	-0,16	0,10	-0,20	-0,15	-0,53	-0,18	-0,46	0,34	-0,09	-0,06	0,03	0,05	0,15	0,21
M8T	-0,75	-0,36	-0,04	-0,23	-0,16	-0,15	-0,20	-0,32	-0,27	-0,74	-0,53	-0,44	0,29	-0,23	-0,31	0,05	0,07	0,17	0,23
M8V	-1,05	-0,43	-0,02	-0,23	-0,17	-0,17	-0,05	-0,29	-0,37	-0,82	-0,54	-0,46	0,21	-0,69	-0,33	0,05	0,08	0,19	0,27
M8W	-1,31	-0,45	-0,03	-0,30	-0,29	-0,27	-0,34	-0,59	-0,39	-0,74	-0,45	-0,51	0,11	-0,58	-0,33	0,02	0,04	0,10	0,21
M8Y	-1,29	-0,46	-0,02	-0,29	-0,31	-0,31	-0,27	-0,55	-0,36	-0,78	-0,83	-0,58	0,10	-0,72	-0,42	0,01	0,02	0,06	0,13
V9A	-0,08	0,29	0,12	-0,02	0,03	0,04	0,11	0,12	-0,04	-0,17	0,03	-0,06	-1,08	-0,86	0,22	0,38	0,38	0,51	0,68
V9C	-0,40	-0,02	-0,03	-0,15	-0,07	-0,04	-0,02	-0,15	-0,23	-0,23	-0,13	-0,14	0,08	-0,22	-0,17	0,15	0,39	0,39	0,35
V9D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,02	0,03
V9E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
V9F	-1,12	-0,41	-0,06	-0,44	-0,39	-0,32	-0,08	-0,39	-0,45	-0,52	-0,75	-0,48	1,02	0,61	-0,09	0,05	0,54	0,43	0,23
V9G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,13	0,11	0,10
V9H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
V9I	-0,17	-0,12	-0,04	0,03	0,03	0,08	0,04	0,05	-0,01	-0,06	-0,17	-0,04	-1,02	-0,56	0,12	0,38	0,36	0,48	0,67
V9K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,06
V9L	-0,82	-0,36	-0,04	-0,29	-0,26	-0,21	-0,24	-0,24	-0,28	-0,41	-0,44	-0,31	0,82	0,00	-0,20	0,05	0,26	0,25	0,21
V9M	-0,89	-0,34	-0,06	-0,34	-0,37	-0,31	-0,43	-0,49	-0,43	-0,41	-0,33	-0,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35
V9N	-0,72	-0,25	-0,01	-0,25	-0,22	-0,13	-0,05	-0,20	-0,26	-0,37	-0,21	-0,08	0,28	-0,58	-0,40	0,03	0,11	0,11	0,12
V9P	-0,69	-0,36	-0,06	-0,25	-0,22	-0,20	0,03	-0,15	-0,14	-0,49	-0,46	-0,13	1,42	-0,49	-0,34	0,06	0,19	0,21	0,16
V9Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,04
V9R	-1,37	-0,27	-0,05	-0,25	-0,21	-0,24	-0,50	-0,22	-0,34	-0,60	-0,23	-0,29	-0,48	-0,22	0,01	0,01	0,02	0,01	0,17
V9S	-0,48	-0,24	-0,03	-0,20	-0,18	-0,14	-0,08	-0,22	-0,25	-0,38	-0,30	-0,17	1,06	0,01	-0,29	0,07	0,26	0,23	0,19
V9T	-0,07	-0,13	-0,05	-0,12	-0,09	-0,06	0,00	-0,14	-0,30	-0,28	-0,17	0,03	-0,05	0,30	0,19	0,27	0,59	0,58	0,42
V9W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,04
V9Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,07	0,05	0,05
H10A	-0,82	-0,21	-0,03	-0,26	-0,30	-0,23	-0,27	-0,37	-0,24	-0,60	-0,53	-0,69	-0,63	-0,68	-0,31	0,04	0,13	0,11	0,18
H10C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,04	0,08
H10D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,02
H10E	-0,68	-0,10	-0,02	-0,13	-0,12	-0,08	0,11	0,04	0,43	-0,64	-0,31	-0,62	1,32	0,37	-0,01	0,11	0,43	0,34	0,16
H10F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,03	0,06
H10G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,06
H10I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,05
H10K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,06	0,08	0,09
H10L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,05
H10M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,08	0,11	0,09
H10N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,07	0,06	0,08
H10P	-0,28	0,01	0,00	-0,14	-0,15	-0,13	-0,30	-0,21	0,01	-0,37	-0,19	-0,45	-0,73	-0,50	-0,11	0,05	0,11	0,08	0,20
H10Q	-0,84	-0,20	-0,03	-0,28	-0,28	-0,27	-0,03	-0,17	0,05	-0,67	-0,33	-0,81	-0,48	-0,56	-0,33	0,04	0,18	0,14	0,20
H10R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,05	0,03	0,08
H10S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,04	0,10
H10T	-0,87	-0,20	-0,03	-0,35	-0,34	-0,30	-0,05	-0,22	-0,15	-0,84	-0,83	-0,83	-0,63	-0,68	-0,29	0,02	0,06	0,05	0,11
H10V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,05	0,05	0,09
H10W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,03	0,05
H10Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,06	0,06	0,06
G11A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,10	0,07	0,08
G11C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,05	0,04
G11D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
G11E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,03
G11F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,09	0,06	0,03
G11H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,16	0,38	0,35	0,04
G11I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,16	0,14	0,03
G11K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,13	0,09	0,04
G11L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	0,21	0,17	0,08
G11M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,11	0,10	0,05

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
G11N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,18	0,17	0,04
G11P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,06	0,04
G11Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,10	0,07	0,04
G11R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,11	0,07	0,04
G11S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,11	0,10	0,05
G11T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,20	0,17	0,03
G11V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,10	0,24	0,17	0,03
G11W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07	0,22	0,18	0,04
G11Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	0,02	0,02
I12A	-0,28	0,03	0,56	-0,12	-0,13	-0,15	-0,05	0,03	0,42	-0,35	-0,38	-0,49	0,16	0,50	-0,06	0,15	0,25	0,22	0,24
I12C	-0,46	-0,84	0,00	0,11	0,15	0,14	0,02	-0,08	-0,31	-0,47	-0,37	-0,37	3,54	1,98	0,49	0,15	0,32	0,30	0,18
I12D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,20	0,35	0,32	0,07
I12E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
I12F	-0,15	0,13	0,39	-0,08	-0,11	-0,10	0,14	0,39	0,86	-0,14	-0,18	-0,06	2,31	1,45	0,45	0,20	0,50	0,43	0,22
I12G	-0,77	-0,94	-0,09	-0,26	-0,27	-0,27	-0,47	-0,44	-0,51	-0,79	-0,69	-0,80	3,17	1,69	0,43	0,12	0,29	0,14	0,13
I12H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
I12K	-0,27	-0,64	-0,07	0,16	0,15	0,19	-0,13	-0,14	-0,26	-0,35	-0,33	-0,36	-0,36	0,20	-0,02	0,08	0,12	0,10	0,22
I12L	0,13	0,17	0,03	0,14	0,14	0,16	0,12	0,11	0,26	0,02	0,07	0,10	-0,71	-0,42	-0,25	0,12	0,25	0,25	0,39
I12M	0,25	0,59	0,43	0,16	0,18	0,19	0,13	0,12	0,23	0,34	0,33	0,38	-1,40	-0,51	-0,28	0,14	0,16	0,16	0,48
I12N	-0,82	-1,13	-0,17	-0,19	-0,20	-0,14	-0,27	-0,30	-0,46	-0,81	-0,78	-0,80	0,52	0,50	0,12	0,09	0,15	0,13	0,13
I12P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13	0,26	0,22	0,05
I12Q	-0,85	-1,14	-0,14	0,07	0,03	0,08	-0,23	-0,32	-0,38	-0,59	-0,50	-0,59	5,78	3,81	1,05	0,14	0,39	0,37	0,11
I12R	-0,33	-1,00	-0,18	0,47	0,43	0,50	-0,20	-0,01	-0,14	-0,16	-0,17	-0,14	0,97	0,98	0,14	0,11	0,20	0,19	0,19
I12S	-0,53	-0,29	0,41	-0,13	-0,16	-0,16	-0,11	0,02	0,03	-0,55	-0,58	-0,66	2,01	1,29	0,30	0,12	0,42	0,34	0,21
I12T	-0,53	-0,51	0,18	-0,18	-0,20	-0,21	-0,11	0,08	-0,03	-0,67	-0,41	-0,73	-1,22	-0,87	-0,43	0,06	0,13	0,10	0,16
I12V	0,10	0,09	0,07	-0,05	-0,04	-0,10	0,00	-0,02	0,02	-0,10	-0,28	-0,33	0,19	0,08	-0,12	0,13	0,44	0,36	0,38
I12W	0,02	0,86	0,67	-0,20	-0,04	-0,04	0,14	0,44	0,86	-0,28	-0,09	0,02	4,14	2,31	0,55	0,13	0,25	0,23	0,12
I12Y	0,04	0,02	0,03	-0,06	-0,06	-0,05	0,10	0,53	0,88	-0,42	-0,37	-0,28	1,31	0,63	0,08	0,10	0,16	0,15	0,16
G13A	-0,13	0,12	0,09	-0,07	-0,06	-0,07	0,07	0,01	0,04	0,26	0,24	0,88	0,70	0,67	0,36	0,13	0,47	0,44	0,40
G13C	0,20	1,03	0,67	0,57	0,72	0,83	0,74	0,48	0,49	1,34	0,99	1,12	-0,23	-0,09	-0,10	0,04	0,08	0,07	0,47
G13D	-0,89	-0,27	-0,06	-0,22	-0,19	-0,18	0,41	-0,18	-0,33	-0,65	-0,61	-0,67	0,84	0,37	0,22	0,09	0,31	0,26	0,36
G13E	-0,79	-0,25	-0,05	-0,03	-0,03	-0,07	-0,25	-0,43	-0,38	-0,17	-0,67	-0,23	0,46	0,41	0,10	0,13	0,43	0,41	0,37
G13F	-0,25	0,23	0,14	-0,01	0,05	0,19	0,17	0,20	0,24	1,26	1,08	1,16	0,44	0,22	0,11	0,10	0,31	0,23	0,47
G13H	0,05	0,12	0,08	-0,16	-0,16	-0,15	0,16	-0,03	-0,12	-0,45	-0,37	-0,03	1,18	0,68	0,34	0,10	0,34	0,28	0,37
G13I	-0,45	-0,09	-0,02	-0,27	-0,23	-0,13	-0,12	-0,11	-0,02	0,09	0,38	0,57	0,26	0,07	0,00	0,05	0,21	0,19	0,48
G13K	0,12	-0,18	-0,05	-0,16	-0,14	-0,10	0,08	-0,01	-0,09	-0,32	-0,46	-0,46	0,29	0,01	-0,01	0,08	0,21	0,20	0,46
G13L	-0,25	0,26	0,14	-0,04	0,00	0,18	0,08	0,06	0,20	1,62	1,31	1,35	0,08	0,18	0,14	0,04	0,07	0,08	0,31
G13M	-0,27	0,23	0,19	-0,05	0,04	0,07	0,05	0,05	0,05	0,77	0,75	0,78	0,30	0,25	-0,02	0,07	0,16	0,13	0,36
G13N	-0,50	-0,18	-0,01	-0,20	-0,18	-0,15	0,01	-0,04	-0,12	-0,54	-0,51	-0,51	-0,15	-0,14	-0,05	0,02	0,08	0,08	0,46
G13P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,08	0,06	0,09
G13Q	-0,49	-0,17	-0,04	-0,19	-0,16	-0,18	0,03	-0,09	-0,12	-0,46	-0,47	-0,20	-0,23	0,00	0,04	0,06	0,18	0,16	0,58
G13R	0,10	-0,26	-0,06	-0,13	-0,10	-0,08	-0,02	-0,08	-0,13	-0,24	-0,52	-0,48	0,03	-0,12	-0,11	0,03	0,07	0,06	0,39
G13S	-0,24	-0,18	-0,03	-0,08	-0,05	-0,06	0,01	-0,02	-0,04	0,63	0,50	0,80	-0,40	-0,30	-0,14	0,07	0,07	0,08	0,70
G13T	-0,30	-0,21	-0,04	-0,16	-0,15	-0,12	-0,01	-0,08	-0,20	-0,42	-0,44	-0,48	-0,31	-0,21	-0,13	0,03	0,07	0,08	0,50
G13V	-0,40	-0,08	-0,01	-0,22	-0,19	-0,18	0,05	-0,09	-0,05	0,21	0,13	-0,03	-0,14	-0,07	-0,06	0,03	0,07	0,07	0,43
G13W	-0,18	0,28	0,15	0,00	-0,02	0,13	0,15	-0,05	0,06	0,97	0,83	0,65	-0,06	-0,15	-0,01	0,03	0,06	0,05	0,28
G13Y	-0,19	0,27	0,11	-0,15	-0,10	-0,03	0,18	0,17	0,11	0,57	0,10	1,44	-0,11	-0,18	-0,08	0,03	0,08	0,07	0,39
G14A	-0,54	-0,07	0,02	-0,11	-0,16	-0,20	0,03	-0,06	0,10	-0,28	-0,18	-0,52	0,04	-0,02	-0,03	0,00	0,03	0,04	0,17
G14C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
G14D	-0,85	-0,15	-0,10	-0,17	-0,18	-0,19	-0,23	-0,23	-0,27	-0,25	-0,44	-0,28	0,25	0,09	0,21	0,00	0,02	0,01	0,12
G14E	-1,02	-0,24	-0,06	-0,27	-0,30	-0,27	-0,22	-0,42	-0,41	-0,59	-0,70	-0,75	0,39	0,03	-0,04	0,00	0,02	0,01	0,14
G14F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	0,02	0,07
G14H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,07
G14I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
G14K	-0,37	-0,01	-0,01	-0,20	-0,11	-0,17	-0,10	-0,13	-0,14	-0,52	-0,50	-0,61	0,15	-0,07	-0,10	0,01	0,02	0,02	0,13
G14L	-0,79	-0,17	-0,05	-0,29	-0,29	-0,26	-0,21	-0,21	-0,30	-0,49	-0,59	-0,80	-0,04	-0,05	0,02	0,00	0,01	0,01	0,10
G14M	0,07	0,15	0,03	-0,05	0,00	0,02	0,13	0,09	0,09	0,25	0,54	-0,13	-0,06	-0,01	-0,07	0,00	0,01	0,01	0,49
G14N	-0,95	-0,28	-0,05	-0,19	-0,19	-0,19	-0,08	-0,19	-0,06	-0,52	-0,61	-0,55	0,46	0,13	-0,11	0,00	0,02	0,01	0,13
G14P	-0,21	-0,08	-0,01	-0,04	-0,08	-0,12	0,09	-0,02	-0,07	-0,23	-0,33	-0,24	0,28	-0,01	0,20	0,01	0,03	0,02	0,23
G14Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,09
G14R	-0,42	-0,04	-0,02	-0,08	-0,11	-0,12	-0,14	-0,11	-0,11	-0,12	-0,16	-0,60	-0,02	-0,06	-0,05	0,00	0,01	0,02	0,25
G14S	-0,73	-0,30	-0,04	-0,26	-0,31	-0,29	-0,17	-0,17	-0,20	-0,62	-0,63	-0,47	0,16	0,10	0,05	0,00	0,00	0,00	0,18
G14T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,06
G14V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,01	0,08
G14W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,09
G14Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
A15C	0,23	-0,01	-0,01	0,14	0,08	0,06	0,12	0,18	0,14	0,16	0,14	0,30	-0,81	-0,23	-0,10	0,21	0,52	0,52	0,63
A15D	0,02	-0,35	-0,01	0,01	-0,07	-0,06	-0,23	-0,24	-0,28	-0,19	0,00	-0,11	0,29	-0,14	-0,05	0,11	0,33	0,31	0,30
A15E	-0,05	-0,27	-0,09	-0,12	-0,08	-0,08	0,06	0,07	0,09	0,05	0,16	0,00	0,47	-0,19	-0,12	0,04	0,19	0,19	0,20
A15F	-0,29	-0,35	-0,08	-0,13	-0,11	-0,14	-0,17	-0,20	-0,29	-0,40	-0,44	0,07	0,17	0,03	-0,10	0,04	0,18	0,23	0,24
A15G	0,20	-0,10	-0,02	0,09	0,08	0,04	0,08	0,27	0,20	0,14	0,03	0,33	-0,17	0,07	-0,08	0,09	0,32	0,08	0,34
A15H	-0,15	-0,13	0,07	0,00	-0,01	-0,05	-0,09	0,05	0,27	-0,24	-0,28	0,08	-0,08	-0,79	-0,20	0,02	0,06	0,08	0,12
A15I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
A15K	0,11	-0,17	-0,02	-0,06	-0,02	-0,08	0,01	0,03	-0,01	-0,04	0,00	0,00	-0,44	0,09	0,06	0,04	0,14	0,15	0,30
A15L	0,14	0,00	-0,02	0,06	0,03	0,03	-0,01	0,04	-0,02	-0,10	0,30	0,10	-0,33	-0,21	-0,05	0,04	0,26	0,27	0,27
A15M	-0,33	-0,43	-0,09	-0,04	-0,10	-0,03	-0,07	-0,20	-0,21	-0,44	-0,37	-0,10	0,17	-0,19	0,01	0,07	0,33	0,29	0,29
A15N	-0,01	0,04	0,27	0,10	0,05	0,06	0,01	0,11	0,04	0,15	0,22	0,32	-0,99	-0,25	0,28	0,24	0,67	0,63	0,73
A15P	0,10	-0,04	0,00	-0,05	0,01	-0,04	-0,13	0,11	0,04	-0,02	-0,09	0,23	-0,58	-0,07	-0,02	0,13	0,31	0,32	0,38
A15Q	0,09	-0,13	0,04	0,14	0,11	0,07	-0,08	-0,09	-0,23	0,02	-0,03	0,26	-0,28	-0,13	-0,02	0,12	0,31	0,38	0,42
A15R	-0,39	-0,34	-0,07	-0,10	-0,11	-0,18	-0,19	-0,08	-0,12	-0,28	-0,03	-0,13	-0,59	-0,41	-0,11	0,02	0,05	0,06	0,28
A15S	-0,17	-0,27	-0,05	-0,07	-0,07	-0,04	-0,22	-0,14	-0,14	-0,20	-0,21	-0,05	-0,09	-0,23	0,00	0,04	0,19	0,20	0,29
A15T	0,19	-0,33	-0,04	0,37	0,45	0,52	0,08	0,41	0,14	0,20	0,22	0,33	0,79	0,74	0,06	0,05	0,21	0,22	0,20
A15V	0,16	-0,08	0,00	-0,03	-0,04	-0,05	-0,06	-0,09	-0,21	-0,04	0,13	-0,11	-0,04	-0,27	-0,05	0,07	0,23	0,23	0,33
A15W	-0,35	0,23	0,29	0,08	-0,02	0,01	0,01	0,10	-0,02	0,42	0,49	0,24	-1,05	-0,35	0,31	0,17	0,51	0,57	0,56
A15Y	-0,06	0,13	0,34	0,03	0,02	0,07	-0,03	-0,03	-0,15	0,32	0,47	0,40	-0,47	-0,12	0,11	0,12	0,45	0,43	0,51
S16A	-0,05	-0,09	-0,02	0,00	-0,01	-0,05	0,07	0,00	-0,07	0,08	0,08	0,05	0,32	-0,09	-0,10	0,14	0,40	0,41	0,42
S16C	-0,23	-0,15	-0,01	0,21	0,00	0,10	0,09	-0,09	-0,15	-0,14	-0,07	-0,33	0,58	-0,27	-0,25	0,10	0,31	0,32	0,37
S16D	-0,13	-0,21	-0,07	0,05	0,06	0,02	0,00	-0,13	-0,11	0,04	-0,09	-0,10	0,46	-0,57	-0,39	0,10	0,37	0,32	0,37
S16E	-0,25	-0,23	-0,07	-0,04	-0,07	-0,05	-0,14	-0,18	-0,16	-0,16	-0,08	-0,36	0,23	-0,40	-0,38	0,12	0,40	0,33	0,48
S16F	-0,23	-0,31	-0,06	-0,09	-0,11	-0,08	0,22	0,03	-0,10	0,30	0,22	0,36	0,76	-0,09	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,22
S16G	-0,05	0,06	-0,03	-0,04	-0,05	-0,01	-0,02	-0,08	-0,01	0,03	0,13	0,19	-0,16	-0,01	-0,08	0,16	0,58	0,45	0,54
S16H	0,72	-0,26	-0,04	0,11	0,06	-0,03	0,04	0,15	0,37	1,37	0,74	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
S16I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
S16K	0,01	0,11	0,08	0,04	0,00	-0,01	0,03	-0,22	-0,19	0,14	0,22	0,06	-0,48	-0,10	-0,13	0,24	0,79	0,61	0,79
S16L	-0,53	-0,25	0,01	-0,10	-0,08	-0,03	-0,25	-0,23	-0,14	0,00	-0,08	-0,17	0,46	-0,25	-0,24	0,06	0,27	0,22	0,28
S16M	-0,01	-0,11	0,09	-0,05	-0,01	-0,05	0,15	-0,17	-0,13	-0,09	0,09	-0,30	0,66	-0,30	-0,31	0,07	0,17	0,24	0,28
S16N	-0,34	-0,26	-0,06	-0,09	-0,11	-0,07	-0,10	-0,23	-0,28	-0,23	-0,25	-0,31	0,49	-0,37	-0,34	0,08	0,25	0,27	0,33
S16P	0,15	0,68	0,36	0,00	0,07	0,01	0,01	-0,06	-0,01	0,33	0,29	-0,07	0,26	-0,14	-0,10	0,14	0,42	0,40	0,60
S16Q	-0,11	-0,14	0,01	-0,05	-0,04	-0,07	-0,09	-0,19	-0,15	0,28	0,06	-0,21	0,27	-0,17	-0,29	0,12	0,46	0,40	0,53
S16R	0,00	0,11	-0,02	0,04	0,00	0,02	-0,02	-0,17	-0,06	0,49	0,29	0,30	0,19	0,00	-0,16	0,15	0,50	0,45	0,44

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
S16T	0,08	-0,17	-0,07	0,02	0,04	0,02	-0,03	-0,17	-0,20	0,45	-0,09	0,07	0,58	-0,34	-0,30	0,14	0,43	0,37	0,48
S16V	-0,18	-0,22	0,25	0,01	-0,04	-0,01	-0,18	-0,27	-0,15	-0,07	-0,08	-0,30	0,25	-0,35	-0,28	0,08	0,21	0,21	0,32
S16W	-0,12	-0,04	-0,05	-0,07	-0,05	-0,03	-0,22	-0,02	0,11	-0,08	0,04	-0,24	0,39	0,31	-0,05	0,07	0,24	0,23	0,30
S16Y	-0,06	-0,22	-0,09	0,02	-0,02	0,07	-0,29	-0,09	-0,07	0,33	-0,07	-0,26	0,59	-0,30	-0,26	0,07	0,37	0,33	0,33
F17A	-0,10	-0,15	-0,07	-0,02	0,05	0,00	0,02	0,02	0,06	0,06	0,10	0,03	-0,23	-0,32	0,01	0,28	0,56	0,52	0,97
F17C	-0,29	-0,14	-0,03	-0,10	-0,02	0,10	-0,03	-0,19	-0,16	-0,20	-0,19	-0,15	0,42	-0,06	0,13	0,08	0,23	0,21	0,28
F17D	-0,15	-0,25	-0,10	0,07	0,08	0,00	0,13	0,11	-0,01	-0,05	0,01	-0,12	0,14	-0,39	-0,18	0,17	0,47	0,41	0,59
F17E	-0,27	-0,17	-0,05	0,11	0,05	0,03	0,16	0,04	-0,02	-0,24	0,07	0,06	-0,28	-0,29	-0,10	0,27	0,55	0,53	0,84
F17G	-0,11	-0,11	-0,07	0,06	0,07	0,10	0,08	0,14	0,22	0,16	0,17	0,04	-0,32	-0,27	0,01	0,40	0,40	0,35	1,12
F17H	-0,13	-0,09	-0,04	0,00	0,00	0,00	0,03	-0,03	-0,01	-0,17	-0,10	-0,04	-0,04	-0,18	0,11	0,25	0,55	0,47	0,99
F17I	0,09	-0,18	-0,09	0,01	0,03	-0,01	-0,07	-0,03	-0,08	-0,09	0,45	0,00	0,44	0,10	-0,05	0,14	0,45	0,44	0,49
F17K	-0,07	-0,11	-0,05	-0,03	0,01	0,10	0,16	0,13	0,12	0,76	0,00	0,30	-0,36	-0,37	0,08	0,35	0,57	0,50	0,98
F17L	-0,13	-0,19	-0,10	-0,03	-0,03	0,00	-0,09	-0,10	-0,14	-0,23	-0,13	-0,12	0,44	-0,09	0,02	0,14	0,50	0,46	0,43
F17M	-0,12	0,05	0,03	0,08	0,07	0,07	-0,02	-0,09	0,04	0,03	0,00	0,05	-0,25	-0,22	0,17	0,34	0,56	0,50	1,02
F17N	-0,17	-0,15	-0,06	0,01	0,05	0,02	0,00	0,06	0,08	0,06	0,09	-0,01	-0,33	-0,32	0,03	0,31	0,44	0,45	0,99
F17P	-0,17	-0,23	-0,09	0,01	0,00	0,01	-0,03	-0,04	0,01	0,02	0,11	0,02	-0,34	-0,28	0,02	0,35	0,52	0,32	0,99
F17Q	-0,07	-0,09	-0,02	0,04	0,03	0,03	0,04	-0,02	0,18	0,05	0,11	-0,05	-0,33	-0,22	0,10	0,40	0,43	0,41	1,15
F17R	0,51	-0,06	-0,05	0,01	0,00	0,04	0,11	0,11	0,13	1,03	1,07	0,69	0,40	-0,05	0,02	0,16	0,45	0,42	0,54
F17S	0,06	-0,03	-0,03	0,09	0,05	0,04	0,06	0,11	0,14	0,21	0,24	0,13	-0,12	-0,13	-0,01	0,24	0,54	0,50	0,77
F17T	-0,06	-0,08	-0,03	0,05	0,04	0,02	0,00	0,03	0,07	0,02	0,14	0,03	-0,23	-0,16	0,05	0,28	0,55	0,51	0,79
F17V	0,03	-0,18	-0,06	0,06	0,01	0,01	-0,11	-0,10	0,00	0,08	0,35	0,01	0,01	-0,08	-0,05	0,18	0,56	0,50	0,70
F17W	0,21	0,62	0,38	0,01	0,05	0,06	-0,07	-0,08	-0,07	0,59	0,44	0,18	0,18	0,13	0,18	0,15	0,38	0,39	0,57
F17Y	0,08	0,15	0,02	0,03	0,05	0,01	-0,01	0,02	0,02	-0,10	0,02	0,20	0,20	0,17	0,38	0,22	0,64	0,56	0,66
N18A	-0,25	-0,04	0,01	-0,08	-0,09	-0,05	-0,04	-0,07	-0,17	-0,02	-0,10	-0,11	0,30	-0,07	-0,21	0,09	0,26	0,28	0,33
N18C	0,21	0,03	-0,04	0,01	0,05	0,07	0,11	0,07	0,19	0,31	0,37	0,40	-0,67	-0,14	0,19	0,23	0,54	0,53	0,74
N18D	-0,22	0,33	0,07	-0,17	-0,17	-0,07	0,10	-0,13	-0,16	-0,26	0,11	-0,27	0,40	-0,14	-0,21	0,06	0,16	0,20	0,33
N18E	0,36	0,04	0,00	0,02	0,01	0,04	0,03	0,11	0,11	0,52	0,22	0,36	0,08	0,07	-0,04	0,12	0,30	0,24	0,51
N18F	0,30	-0,08	-0,02	-0,18	-0,20	-0,15	-0,18	-0,26	-0,11	1,03	-0,03	0,11	0,34	-0,23	-0,19	0,06	0,13	0,15	0,28
N18G	0,06	-0,04	-0,03	-0,03	-0,08	-0,06	-0,11	0,04	-0,04	0,55	0,07	-0,03	0,14	-0,17	-0,14	0,07	0,19	0,17	0,50
N18H	-0,03	0,07	0,00	0,04	-0,02	-0,01	-0,02	-0,20	0,03	-0,24	0,26	-0,30	0,50	0,21	-0,11	0,07	0,22	0,20	0,30
N18I	0,51	-0,09	-0,02	0,07	0,04	0,10	0,09	-0,03	0,13	0,61	0,55	0,28	0,26	0,20	0,01	0,13	0,34	0,37	0,38
N18K	-0,02	-0,04	-0,01	-0,02	-0,04	0,01	-0,02	0,03	-0,12	0,09	0,17	0,27	0,10	-0,02	0,04	0,15	0,47	0,44	0,54
N18L	0,10	-0,04	0,03	0,04	0,03	0,03	0,06	0,01	0,00	0,01	0,20	0,09	-0,09	0,02	0,04	0,17	0,40	0,40	0,47
N18M	0,22	-0,06	-0,01	-0,04	-0,07	0,03	0,02	-0,12	-0,08	-0,02	0,09	0,07	0,18	0,16	-0,06	0,10	0,34	0,40	0,45
N18P	-0,21	-0,08	0,02	0,01	-0,02	0,01	-0,03	-0,08	0,01	0,03	-0,11	-0,13	-0,26	0,01	-0,07	0,18	0,52	0,44	0,59
N18Q	-0,23	-0,06	-0,01	-0,04	-0,03	-0,04	0,01	-0,06	-0,08	-0,20	-0,23	0,02	0,30	-0,09	-0,14	0,11	0,35	0,34	0,40
N18R	-0,03	0,06	0,00	-0,02	0,00	0,06	0,03	0,10	-0,03	-0,18	-0,05	0,09	-0,23	-0,08	0,04	0,12	0,36	0,34	0,53
N18S	-0,15	-0,04	0,00	-0,07	-0,06	-0,07	0,01	-0,05	-0,05	-0,24	0,31	0,36	0,41	-0,07	-0,15	0,09	0,26	0,26	0,45
N18T	-0,09	0,04	-0,01	-0,02	-0,02	0,01	-0,10	-0,08	-0,07	-0,21	-0,08	-0,09	-0,13	0,00	0,04	0,14	0,41	0,42	0,47
N18V	-0,13	0,00	0,03	-0,05	-0,05	-0,03	-0,02	-0,04	-0,06	0,37	0,23	0,12	0,02	-0,02	-0,06	0,12	0,38	0,36	0,47
N18W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
N18Y	-0,49	-0,18	-0,03	-0,14	-0,11	-0,05	-0,11	-0,15	-0,22	-0,37	-0,11	0,24	0,33	-0,20	-0,07	0,05	0,17	0,18	0,34
F19A	-0,58	-1,18	-0,10	-0,39	-0,39	-0,35	-0,20	-0,24	-0,49	-0,89	-0,94	-0,95	-0,44	-0,35	-0,21	0,13	0,22	0,32	0,43
F19C	-0,72	-1,07	-0,06	-0,31	-0,30	-0,28	-0,41	-0,38	-0,63	-1,03	-1,23	-1,06	-0,62	-0,28	-0,09	0,05	0,05	0,09	0,23
F19D	-1,04	-1,31	-0,10	-0,40	-0,40	-0,35	-0,71	-0,72	-0,80	-0,88	-0,99	-1,03	-0,56	-0,40	-0,24	0,03	0,06	0,11	0,19
F19E	-0,96	-1,25	-0,09	-0,42	-0,39	-0,34	-0,44	-0,42	-0,73	-0,95	-1,12	-1,10	-0,75	-0,47	-0,31	0,05	0,09	0,12	0,21
F19G	-0,51	-1,15	-0,11	-0,36	-0,37	-0,34	-0,28	-0,34	-0,52	-0,78	-1,11	-0,99	-0,46	-0,40	-0,23	0,10	0,17	0,22	0,45
F19H	-0,48	-1,22	-0,10	-0,35	-0,38	-0,34	-0,23	-0,26	-0,63	-0,44	-0,76	-0,66	-0,20	-0,35	-0,23	0,15	0,22	0,40	0,51
F19I	-1,41	-0,42	-0,05	-0,39	-0,43	-0,46	-0,53	-0,52	-0,40	-1,11	-1,00	-0,89	0,00	0,00	0,00	0,02	0,04	0,05	0,16
F19K	-1,35	-0,41	-0,06	-0,38	-0,42	-0,45	-0,51	-0,55	-0,40	-1,01	-0,92	-0,83	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03	0,04	0,22
F19L	-0,26	-1,21	-0,10	-0,22	-0,25	-0,23	-0,25	-0,21	-0,45	-0,25	-0,52	-0,47	-0,23	-0,26	-0,12	0,08	0,13	0,27	0,29
F19M	0,02	-0,80	-0,09	-0,11	-0,13	-0,11	-0,06	-0,02	-0,23	-0,28	-0,25	-0,09	-0,05	-0,12	-0,03	0,08	0,15	0,32	0,31
F19N	-0,79	-1,25	-0,12	-0,36	-0,39	-0,35	-0,67	-0,72	-0,86	-0,65	-1,10	-0,98	-0,34	-0,17	-0,08	0,06	0,15	0,18	0,38
F19P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,10
F19Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
F19R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
F19S	-0,35	-1,21	-0,10	-0,34	-0,37	-0,34	-0,28	-0,35	-0,58	-0,44	-0,86	-0,83	-0,32	-0,35	-0,20	0,10	0,17	0,26	0,40
F19T	-0,57	-1,26	-0,11	-0,37	-0,39	-0,36	-0,27	-0,37	-0,67	-0,60	-1,02	-0,97	-0,36	-0,37	-0,20	0,08	0,12	0,27	0,34
F19V	-0,86	-1,30	-0,11	-0,41	-0,40	-0,36	-0,38	-0,43	-0,71	-1,01	-1,34	-1,21	-0,54	-0,38	-0,21	0,07	0,15	0,26	0,27
F19W	-0,06	-0,57	-0,06	-0,07	-0,10	-0,08	-0,04	-0,11	-0,28	-0,13	-0,35	-0,31	-0,20	-0,20	-0,14	0,06	0,10	0,23	0,28
F19Y	-0,08	-0,60	-0,06	-0,10	-0,11	-0,08	-0,15	-0,12	-0,35	0,02	-0,36	-0,18	-0,09	-0,13	-0,06	0,08	0,13	0,25	0,34
A20C	-0,15	0,09	0,18	-0,02	-0,01	0,02	0,10	0,02	-0,01	-0,16	-0,43	-0,07	-0,13	0,07	0,00	0,13	0,37	0,31	0,55
A20D	0,06	-0,31	-0,06	0,11	0,12	0,08	-0,02	0,05	0,05	-0,13	0,01	0,09	0,10	-0,12	0,00	0,13	0,38	0,29	0,42
A20E	-0,08	-0,30	-0,04	0,09	0,10	0,05	-0,10	-0,09	-0,11	0,03	-0,23	-0,07	0,07	-0,18	0,00	0,06	0,23	0,18	0,33
A20F	0,65	0,29	0,08	0,04	-0,11	0,02	0,90	0,86	0,67	0,41	0,40	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
A20G	0,11	-0,08	0,04	-0,04	-0,04	-0,03	0,07	0,01	0,04	0,13	-0,04	0,03	-0,68	-0,05	0,00	0,20	0,54	0,00	0,60
A20H	-0,10	-0,03	-0,05	-0,03	-0,03	0,02	-0,03	-0,03	-0,03	0,10	-0,11	0,15	-0,22	0,03	0,00	0,05	0,16	0,14	0,29
A20I	-0,20	0,36	0,10	-0,03	-0,06	-0,03	-0,07	-0,13	0,05	-0,51	-0,29	-0,21	0,17	0,29	0,00	0,05	0,19	0,17	0,30
A20K	-0,06	0,11	-0,02	-0,05	-0,02	0,00	0,07	0,06	0,00	0,31	0,15	0,25	-0,17	-0,13	0,00	0,14	0,45	0,35	0,58
A20L	-0,25	0,13	0,17	-0,10	-0,05	-0,01	-0,05	-0,07	0,09	0,05	-0,39	-0,13	-0,20	0,01	0,00	0,04	0,15	0,12	0,26
A20M	0,38	0,04	0,02	0,12	-0,10	0,09	0,34	0,28	0,58	0,08	0,29	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33
A20N	0,13	-0,27	-0,10	0,01	0,03	0,03	-0,07	0,11	0,00	0,59	0,21	0,32	-0,15	-0,12	0,00	0,07	0,21	0,19	0,37
A20P	-0,45	-0,59	-0,12	-0,19	-0,18	-0,14	-0,18	-0,31	-0,45	-0,42	-0,50	-0,30	0,01	-0,54	0,00	0,09	0,36	0,26	0,37
A20Q	0,07	-0,37	-0,07	-0,02	-0,06	-0,02	0,03	0,07	-0,05	0,09	0,07	0,08	0,10	0,03	0,00	0,06	0,17	0,14	0,29
A20R	-0,38	0,15	-0,01	-0,11	-0,08	-0,03	-0,08	0,04	0,26	0,72	-0,13	0,12	-0,44	-0,42	0,00	0,03	0,12	0,10	0,30
A20S	0,10	-0,26	-0,07	-0,01	-0,02	-0,01	-0,02	0,06	-0,03	0,12	-0,01	0,19	0,04	0,01	0,00	0,10	0,34	0,29	0,43
A20T	0,04	-0,36	-0,08	-0,06	-0,06	0,00	-0,02	0,00	-0,09	-0,02	-0,18	0,02	-0,19	-0,30	0,00	0,05	0,15	0,14	0,29
A20V	-0,12	0,20	0,09	-0,07	-0,07	-0,05	-0,04	-0,07	-0,03	-0,39	-0,39	-0,20	0,08	0,08	0,00	0,06	0,19	0,19	0,29
A20W	-0,25	0,32	0,19	-0,10	-0,07	-0,03	-0,08	0,06	0,15	0,35	-0,33	0,04	-0,15	-0,04	0,00	0,03	0,13	0,09	0,22
A20Y	-0,13	0,17	0,14	-0,09	-0,04	0,02	-0,05	-0,02	0,16	-0,39	-0,36	-0,06	-0,20	-0,23	0,00	0,05	0,15	0,10	0,28
G21A	-0,06	0,07	0,21	0,10	0,05	-0,02	0,02	-0,01	0,09	-0,29	-0,13	0,08	-0,07	-0,06	0,32	0,10	0,27	0,24	0,40
G21C	0,04	0,53	0,32	0,26	0,35	0,39	0,14	0,24	0,10	-0,20	-0,33	-0,04	0,35	0,48	-0,16	0,12	0,36	0,30	0,39
G21D	-0,19	-0,35	-0,05	0,05	0,07	0,08	-0,04	-0,08	-0,03	-0,28	-0,41	-0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26
G21E	0,10	-0,30	-0,05	0,19	0,19	0,19	0,38	0,35	0,34	-0,09	-0,30	0,20	0,30	0,18	-0,08	0,15	0,42	0,39	0,38
G21F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
G21H	0,10	0,17	-0,03	0,16	0,16	0,12	0,10	0,14	0,11	0,04	0,09	0,20	-0,01	0,08	-0,15	0,13	0,41	0,34	0,51
G21I	-0,42	-0,07	0,11	-0,15	-0,16	-0,17	-0,41	-0,08	0,07	-0,91	-0,87	-0,52	-0,83	-0,50	1,28	0,01	0,03	0,04	0,13
G21K	-0,06	0,08	0,18	0,16	0,17	0,19	0,36	0,13	0,17	-0,32	-0,25	0,04	-1,25	-0,74	-0,28	0,53	0,34	0,45	1,24
G21L	-0,45	-0,16	0,07	0,07	0,01	-0,08	-0,28	-0,06	-0,01	-0,72	-0,66	-0,38	-0,81	-0,66	0,41	0,01	0,04	0,04	0,14
G21M	-0,38	-0,17	0,07	-0,07	-0,10	-0,09	-0,25	-0,02	0,07	-0,07	-0,47	-0,22	-0,66	-0,62	0,84	0,02	0,05	0,05	0,17
G21N	0,03	-0,15	-0,07	0,07	0,08	0,14	0,04	0,24	0,15	-0,06	-0,27	0,13	-0,80	-0,10	-0,17	0,23	0,60	0,53	0,74
G21P	0,13	0,20	0,01	0,08	0,04	-0,01	0,00	0,05	0,02	-0,09	-0,06	0,06	-0,05	-0,34	0,09	0,11	0,34	0,30	0,42
G21Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
G21R	0,07	0,20	0,12	0,07	0,00	0,06	0,23	0,09	0,08	0,00	0,00	0,00	-1,13	-0,56	-0,31	0,38	0,56	0,58	1,07
G21S	0,10	0,00	-0,05	0,07	0,02	0,04	0,02	0,03	0,07	0,09	0,28	0,27	-0,09	0,04	0,07	0,11	0,32	0,27	0,44
G21T	-0,07	-0,41	-0,04	0,06	-0,03	-0,01	0,15	0,16	-0,03	-0,31	-0,12	-0,06	-0,16	-0,46	0,23	0,09	0,30	0,25	0,41
G21V	-0,26	0,19	0,19	-0,01	-0,01	-0,04	-0,23	-0,05	0,17	-0,62	-0,36	-0,25	-0,55	-0,65	0,79	0,01	0,06	0,06	0,16
G21W	-0,47	0,06	0,07	0,00	0,00	0,01	-0,15	0,07	0,05	-0,21	-0,22	-0,14	-0,66	-0,52	0,51	0,02	0,06	0,06	0,17
G21Y	-0,40	0,06	0,09	-0,04	-0,06	-0,07	-0,10	-0,03	0,08	-0,57	-0,45	-0,40	-0,79	-0,48	0,17	0,02	0,05	0,05	0,20
I22A	-0,29	-0,88	-0,12	-0,18	-0,20	-0,25	-0,08	-0,07	-0,10	-0,25	-0,30	-0,19	-0,11	-0,25	-0,30	0,23	0,53	0,48	0,78

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
I22C	-0,09	-0,40	-0,05	-0,03	-0,07	-0,09	0,02	-0,02	-0,05	0,06	-0,06	0,05	-0,29	-0,21	-0,12	0,19	0,51	0,45	0,76
I22D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,04	0,07
I22E	-0,58	-1,17	-0,17	-0,40	-0,43	-0,39	-0,10	-0,12	-0,42	-1,08	-1,20	-0,99	0,93	-0,53	0,89	0,11	0,33	0,24	0,24
I22F	-0,52	-1,26	-0,17	-0,34	-0,36	-0,33	-0,02	-0,11	-0,34	-0,04	-0,03	0,01	-0,26	-0,47	-0,01	0,07	0,24	0,25	0,50
I22G	-0,92	-1,23	-0,17	-0,38	-0,41	-0,37	-0,29	-0,24	-0,41	-0,93	-1,25	-1,10	0,31	-0,26	1,09	0,03	0,07	0,06	0,12
I22H	-0,46	-1,00	-0,10	-0,28	-0,33	-0,33	-0,17	-0,18	-0,40	-0,32	-0,43	-0,53	0,34	-0,53	-0,22	0,07	0,23	0,18	0,25
I22K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,04	0,10
I22L	-0,05	-1,18	-0,17	-0,11	-0,15	-0,18	0,00	-0,02	-0,14	0,39	0,21	0,11	-0,07	-0,49	0,47	0,09	0,24	0,21	0,50
I22M	-0,20	-1,11	-0,15	-0,13	-0,14	-0,10	-0,13	-0,05	-0,05	-0,02	0,04	0,29	-0,08	-0,45	-0,13	0,06	0,23	0,26	0,63
I22N	-0,57	-1,28	-0,17	-0,31	-0,30	-0,29	-0,28	-0,22	-0,38	-0,50	-0,72	-0,56	0,47	-0,58	0,88	0,05	0,15	0,14	0,17
I22P	-0,28	-0,97	-0,12	-0,21	-0,24	-0,25	-0,08	-0,15	-0,36	-0,25	-0,31	-0,16	0,66	-0,36	1,58	0,10	0,29	0,23	0,26
I22Q	-0,34	-0,88	-0,16	-0,13	-0,14	-0,13	0,06	0,04	-0,21	-0,06	-0,18	0,17	0,50	-0,37	0,75	0,12	0,37	0,30	0,36
I22R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
I22S	-0,40	-1,18	-0,15	-0,28	-0,31	-0,31	-0,08	-0,16	-0,43	-0,36	-0,46	-0,53	0,55	-0,32	0,34	0,09	0,29	0,23	0,30
I22T	-0,19	-0,60	-0,12	-0,03	-0,12	-0,15	0,07	-0,05	-0,20	0,01	0,10	0,01	0,00	-0,27	0,21	0,10	0,25	0,22	0,55
I22V	-0,18	-0,50	-0,11	-0,11	-0,10	-0,07	-0,04	-0,10	-0,08	-0,09	-0,19	-0,13	0,12	0,01	0,32	0,14	0,40	0,34	0,66
I22W	-0,92	-1,32	-0,17	-0,43	-0,42	-0,38	-0,49	-0,55	-0,64	-1,15	-1,25	-1,09	-0,34	-0,31	-0,18	0,03	0,08	0,07	0,15
I22Y	-0,55	-1,21	-0,17	-0,38	-0,40	-0,38	-0,09	-0,16	-0,58	-0,39	-0,86	-0,80	0,52	-0,42	0,98	0,12	0,35	0,34	0,30
K23A	-0,18	-0,40	-0,05	-0,07	-0,07	-0,11	0,06	-0,01	-0,14	-0,32	-0,56	-0,25	0,09	-0,13	-0,33	0,05	0,17	0,17	0,40
K23C	-0,02	-0,13	-0,01	0,01	-0,05	0,03	-0,05	-0,19	-0,13	-0,50	-0,48	-0,23	0,84	0,41	0,52	0,09	0,28	0,23	0,27
K23D	0,19	-0,34	-0,01	0,10	-0,08	0,06	-0,18	-0,01	0,10	0,03	0,10	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39
K23E	-0,14	-0,02	-0,02	-0,02	0,05	-0,08	-0,07	-0,06	-0,05	-0,59	-0,49	-0,07	-0,60	0,08	-0,06	0,21	0,53	0,47	0,51
K23F	0,18	0,52	0,21	-0,09	-0,07	-0,11	0,11	0,08	0,16	-0,07	-0,13	0,07	-0,65	-0,05	-0,16	0,29	0,51	0,51	0,52
K23G	0,05	-0,20	-0,03	0,03	0,07	0,05	0,01	0,11	0,04	-0,14	-0,22	0,07	-0,55	-0,22	-0,13	0,20	0,52	0,46	0,56
K23H	0,04	0,04	-0,04	-0,03	-0,01	0,00	0,04	0,11	0,04	-0,39	-0,23	0,11	-0,80	0,01	-0,15	0,23	0,57	0,55	0,56
K23I	0,29	0,19	0,11	-0,06	0,13	-0,01	-0,15	0,08	-0,01	0,02	-0,07	-0,01	-0,57	0,01	-0,41	0,17	0,45	0,44	0,39
K23L	0,16	0,18	0,00	-0,07	-0,04	-0,04	-0,04	0,05	0,01	-0,34	-0,29	-0,10	-0,27	0,41	0,07	0,21	0,57	0,50	0,46
K23M	-0,10	-0,15	-0,06	0,01	0,05	-0,01	-0,03	-0,01	-0,06	-0,60	-0,35	-0,06	0,28	0,28	-0,12	0,15	0,40	0,32	0,36
K23N	-0,09	-0,02	-0,02	-0,11	-0,07	-0,15	0,09	0,06	-0,10	-0,39	-0,16	-0,22	-0,09	0,12	0,10	0,16	0,41	0,35	0,46
K23P	-0,62	-0,52	-0,10	-0,40	-0,38	-0,36	-0,34	-0,46	-0,51	-1,10	-1,02	-0,70	-0,23	-0,68	0,27	0,05	0,18	0,15	0,24
K23Q	-0,09	-0,12	-0,08	0,02	0,17	0,34	0,40	0,07	-0,13	0,31	0,47	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56
K23R	-0,05	0,01	-0,03	-0,02	-0,04	-0,05	-0,11	-0,10	-0,10	0,10	-0,17	0,07	0,37	0,16	0,85	0,06	0,18	0,15	0,27
K23S	-0,02	-0,17	-0,03	-0,05	-0,02	-0,06	0,04	0,01	-0,06	-0,36	-0,48	-0,11	0,17	0,43	0,15	0,13	0,45	0,37	0,39
K23T	-0,08	0,00	0,00	-0,02	0,02	-0,11	0,11	0,06	-0,04	-0,35	-0,30	0,11	-0,16	0,12	0,21	0,18	0,49	0,43	0,49
K23V	-0,05	0,31	0,07	0,00	0,05	-0,03	-0,02	0,00	0,06	-0,03	0,03	0,35	-0,56	0,12	0,18	0,21	0,52	0,51	0,37
K23W	0,01	-0,08	0,01	-0,08	0,03	-0,02	-0,06	0,08	-0,01	-0,11	-0,06	-0,02	1,10	1,14	0,98	0,10	0,33	0,29	0,26
K23Y	0,04	-0,11	0,02	-0,09	-0,28	-0,15	-0,07	-0,05	-0,10	-0,39	-0,28	-0,11	1,25	1,07	0,51	0,10	0,34	0,29	0,27
S24A	0,02	0,08	0,04	0,02	0,01	0,03	0,03	0,10	0,07	-0,44	-0,06	-0,17	0,19	0,08	0,00	0,09	0,27	0,23	0,36
S24C	0,05	-0,12	-0,05	-0,02	-0,01	-0,03	-0,02	-0,10	-0,07	-0,04	-0,16	-0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13
S24D	0,11	-0,38	-0,03	0,08	0,10	0,07	-0,01	0,06	0,02	-0,27	-0,03	-0,08	0,04	-0,08	0,00	0,18	0,38	0,34	0,50
S24E	-0,15	-0,37	-0,03	0,06	0,07	0,01	0,09	-0,07	0,01	-0,62	0,00	-0,15	0,07	-0,15	0,00	0,09	0,19	0,18	0,33
S24F	0,08	0,59	-0,03	-0,13	-0,16	-0,15	-0,05	-0,13	0,29	-0,19	-0,37	-0,40	0,00	0,00	0,00	0,09	0,28	0,24	0,11
S24G	-0,09	-0,07	-0,05	0,00	0,00	0,00	0,04	-0,03	-0,04	0,07	0,15	-0,11	0,10	-0,02	0,00	0,07	0,21	0,15	0,32
S24H	0,05	0,50	0,34	0,01	-0,02	0,03	0,10	-0,01	0,02	-0,07	-0,19	-0,11	-0,16	0,14	0,00	0,16	0,47	0,37	0,54
S24I	0,13	0,13	-0,04	-0,15	-0,17	-0,17	-0,05	-0,13	0,14	-0,35	-0,42	-0,45	0,00	0,00	0,00	0,05	0,15	0,12	0,11
S24K	-0,02	0,05	0,22	0,04	0,04	0,06	-0,04	0,13	0,10	-0,27	-0,21	-0,23	-0,59	-0,14	0,00	0,23	0,32	0,29	0,62
S24L	-0,04	0,42	0,25	-0,15	-0,15	-0,08	-0,01	-0,06	0,01	-0,56	-0,40	-0,43	0,57	0,43	0,00	0,09	0,30	0,26	0,32
S24M	0,34	0,35	0,35	0,00	0,00	0,06	0,04	-0,05	0,04	0,18	0,45	0,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
S24N	0,11	0,01	-0,01	0,06	0,03	0,07	0,06	0,06	0,10	-0,03	-0,03	0,07	-0,27	0,04	0,00	0,18	0,43	0,37	0,69
S24P	-0,02	-0,28	-0,09	-0,06	-0,04	0,02	-0,04	-0,14	-0,19	-0,19	-0,10	-0,11	-0,82	0,12	0,00	0,31	0,48	0,48	0,69
S24Q	0,27	-0,01	-0,04	-0,06	-0,02	0,04	-0,18	-0,15	-0,05	-0,18	-0,12	-0,31	-0,08	-0,04	0,00	0,07	0,18	0,17	0,36
S24R	0,08	0,46	0,56	-0,04	0,01	0,04	0,07	0,00	0,10	0,31	0,38	0,46	-0,65	0,10	0,00	0,23	0,51	0,42	0,73
S24T	-0,24	-0,14	0,00	0,07	0,06	0,08	0,04	-0,18	-0,02	-0,02	-0,12	-0,10	0,11	0,04	0,00	0,10	0,25	0,23	0,37
S24V	-0,05	0,28	0,07	-0,13	-0,08	-0,07	-0,13	-0,09	0,01	-0,43	-0,28	-0,35	0,31	0,35	0,00	0,12	0,33	0,28	0,32
S24W	-0,08	0,47	0,36	-0,08	-0,09	-0,05	-0,14	-0,08	0,05	-0,19	0,08	-0,15	0,33	0,34	0,00	0,07	0,25	0,22	0,33
S24Y	-0,17	0,33	0,31	-0,12	-0,13	-0,08	-0,02	-0,20	-0,03	-0,46	-0,13	-0,30	0,32	0,31	0,00	0,11	0,39	0,32	0,41
Y25A	-0,19	-0,20	-0,07	-0,02	0,02	0,02	0,17	0,10	-0,02	-0,31	-0,26	-0,17	-0,11	-0,15	-0,08	0,13	0,44	0,38	0,47
Y25C	-0,27	-0,28	-0,05	-0,10	-0,07	-0,01	0,23	0,07	-0,03	-0,36	-0,44	-0,34	-0,15	-0,10	-0,27	0,22	0,57	0,47	0,53
Y25D	-0,39	-0,38	-0,05	-0,15	-0,20	-0,21	-0,14	-0,18	-0,16	-0,27	-0,48	-0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45
Y25E	-0,35	-0,34	-0,07	-0,04	-0,04	0,00	0,06	-0,02	-0,12	-0,19	-0,16	-0,26	-0,72	-0,20	-0,27	0,27	0,49	0,45	0,83
Y25F	-0,15	0,05	0,01	-0,02	0,02	0,05	-0,02	0,01	-0,06	0,06	-0,03	-0,11	0,16	-0,01	-0,05	0,10	0,29	0,20	0,40
Y25G	-0,31	-0,36	-0,05	-0,11	-0,14	-0,10	0,07	-0,06	-0,04	0,12	0,03	-0,02	-0,56	-0,32	-0,38	0,36	0,43	0,38	0,77
Y25H	-0,14	-0,31	-0,04	-0,01	-0,02	0,06	0,06	0,00	-0,03	-0,10	-0,08	-0,10	-0,09	-0,27	0,14	0,13	0,34	0,32	0,50
Y25I	-0,41	-0,40	-0,09	-0,28	-0,25	-0,21	0,01	-0,14	-0,28	-0,67	-0,54	-0,63	0,07	-0,34	-0,15	0,14	0,39	0,34	0,39
Y25K	-0,41	-0,27	-0,02	-0,32	-0,26	-0,20	-0,01	-0,15	0,01	-0,39	-0,42	-0,47	-0,27	-0,13	1,38	0,18	0,22	0,28	0,37
Y25L	-0,44	-0,47	-0,08	-0,30	-0,29	-0,23	-0,04	-0,16	-0,29	-0,72	-0,63	-0,63	0,06	-0,39	0,01	0,17	0,45	0,39	0,50
Y25M	-0,07	-0,26	-0,07	-0,07	-0,06	0,00	-0,06	0,03	-0,04	0,04	0,15	-0,01	0,05	-0,20	-0,15	0,13	0,36	0,34	0,43
Y25N	-0,10	-0,05	-0,03	-0,08	-0,10	-0,06	0,17	0,04	-0,03	-0,06	-0,04	0,01	-0,49	-0,20	-0,33	0,24	0,54	0,47	0,68
Y25P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,09
Y25Q	-0,32	-0,22	-0,07	-0,18	-0,16	-0,13	-0,11	-0,03	-0,22	-0,52	-0,33	-0,25	-0,36	-0,34	-0,08	0,21	0,50	0,44	0,72
Y25R	-0,27	-0,20	-0,03	-0,21	-0,18	-0,15	0,04	-0,05	-0,10	-0,18	-0,20	-0,25	-0,07	-0,13	-0,07	0,29	0,49	0,44	0,45
Y25S	-0,11	-0,04	-0,04	-0,01	0,01	0,04	0,06	0,01	0,04	-0,02	0,02	-0,07	-0,57	-0,10	-0,31	0,31	0,49	0,42	0,64
Y25T	-0,22	-0,28	-0,05	-0,08	-0,12	-0,11	0,10	0,07	-0,04	-0,23	-0,15	-0,23	0,27	0,02	-0,39	0,22	0,57	0,47	0,51
Y25V	-0,19	-0,27	-0,07	-0,18	-0,18	-0,13	-0,06	-0,11	-0,19	-0,60	-0,37	-0,44	-0,16	-0,07	-0,32	0,20	0,51	0,38	0,55
Y25W	-0,14	-0,11	0,00	-0,07	-0,04	0,02	0,13	0,03	0,05	-0,01	0,00	-0,06	-0,05	-0,17	-0,04	0,07	0,19	0,16	0,32
L26A	-0,58	-0,51	-0,16	-0,32	-0,27	-0,22	-0,04	-0,22	-0,19	-0,97	-0,87	-0,57	0,45	-0,36	2,08	0,03	0,09	0,07	0,13
L26C	-0,26	0,11	-0,04	-0,16	-0,18	-0,12	0,15	0,05	-0,05	-0,43	-0,33	-0,34	0,00	-0,07	-0,72	0,07	0,19	0,13	0,31
L26D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,03
L26E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,02
L26F	-0,19	-0,50	-0,14	-0,11	-0,12	-0,08	0,07	-0,09	-0,15	-0,29	-0,23	-0,03	-0,47	-0,31	-0,15	0,21	0,46	0,41	0,54
L26G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,04
L26H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,05
L26I	-0,32	-0,28	-0,02	-0,06	-0,12	-0,10	-0,01	-0,08	-0,17	0,03	-0,07	-0,07	0,04	-0,09	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,25
L26K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,02
L26M	-0,07	-0,46	-0,04	0,01	-0,09	0,00	0,19	0,23	-0,08	0,36	0,17	0,01	-0,27	-0,20	-0,32	0,20	0,35	0,29	0,49
L26N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,03
L26P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,03
L26Q	-0,58	-0,33	-0,15	-0,40	-0,32	-0,30	-0,27	-0,36	-0,37	-1,02	-0,96	-0,58	0,13	-0,08	1,80	0,02	0,05	0,04	0,14
L26R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,03
L26S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,01	0,04
L26T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,04	0,05
L26V	-0,17	0,15	0,11	-0,17	-0,13	-0,06	-0,13	0,02	-0,15	-0,72	-0,61	-0,37	0,36	-0,04	-0,29	0,06	0,18	0,16	0,23
L26W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
L26Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
V27A	-0,11	-0,15	0,00	-0,11	-0,08	-0,04	-0,05	-0,04	-0,10	-0,37	-0,28	0,00	-0,04	-0,04	-0,04	0,00	0,00	0,00	0,83
V27C	0,17	-0,26	-0,03	-0,05	-0,05	-0,02	-0,08	-0,09	-0,03	-0,34	-0,10	-0,07	0,00	0,00	0,00	0,02	0,02	0,02	0,69
V27D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
V27E	-0,21	-0,32	-0,09	-0,02	-0,06	-0,04	-0,09	-0,10	-0,05	-0,22	-0,18	-0,09	-0,02	-0,02	-0,02	0,03	0,03	0,03	0,94
V27F	0,20	0,28	0,19	-0,08	-0,20	-0,04	0,02	-0,06	-0,10	-0,31	-0,13	-0,14	-0,02	-0,02	-0,02	0,02	0,02	0,02	0,76
V27G	0,07	-0,10	0,00	-0,14	-0,13	-0,08	-0,02	0,01	0,00	-0,22	0,08	0,16	0,01	0,01	0,01	0,04	0,04	0,00	0,73

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
V27H	0,01	-0,07	0,13	-0,04	-0,06	0,00	-0,03	-0,08	-0,03	-0,37	-0,08	0,15	0,00	0,00	0,00	0,04	0,04	0,04	1,08
V27I	1,26	-0,12	-0,01	0,18	0,10	-0,03	0,44	0,11	0,21	1,45	1,10	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
V27K	0,00	0,31	0,27	-0,02	-0,02	0,04	0,08	-0,04	-0,01	-0,08	0,07	-0,11	-0,03	-0,03	-0,03	0,01	0,01	0,01	0,78
V27L	0,02	0,04	0,00	-0,05	-0,06	-0,01	-0,04	-0,07	-0,02	0,09	0,05	0,12	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,62
V27M	0,08	0,05	0,12	-0,09	-0,08	-0,06	-0,04	-0,13	-0,08	-0,30	-0,26	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,02	0,02	0,02	0,58
V27N	0,00	0,00	-0,02	-0,09	-0,08	-0,06	0,02	-0,06	-0,08	-0,29	-0,06	-0,14	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,57
V27P	-0,33	-0,56	-0,07	-0,20	-0,20	-0,19	-0,09	-0,29	-0,27	-0,63	-0,27	-0,27	0,12	0,12	0,12	0,04	0,04	0,04	0,31
V27Q	0,13	-0,01	-0,06	0,00	-0,06	-0,05	0,00	-0,01	-0,03	-0,20	-0,15	-0,08	-0,03	-0,03	-0,03	0,01	0,01	0,01	0,78
V27R	-0,06	0,28	0,26	-0,08	-0,04	-0,02	-0,01	-0,11	-0,10	-0,13	-0,21	-0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,63
V27S	0,03	-0,03	-0,01	-0,04	-0,04	-0,02	0,01	0,05	-0,01	-0,11	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03	0,03	0,84
V27T	-0,10	-0,14	0,00	-0,09	-0,08	-0,06	-0,07	-0,07	-0,11	-0,46	-0,31	-0,15	-0,02	-0,02	-0,02	0,02	0,02	0,02	0,78
V27W	-0,15	0,03	0,02	-0,13	-0,11	-0,11	-0,09	-0,18	-0,03	-0,22	-0,11	-0,16	-0,02	-0,02	-0,02	0,01	0,01	0,01	0,40
V27Y	0,18	-0,08	-0,05	-0,06	-0,06	-0,06	0,05	-0,04	-0,06	0,30	-0,11	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
S28A	-0,21	-0,40	-0,06	-0,13	-0,09	-0,11	-0,05	-0,12	-0,12	-0,14	-0,48	-0,13	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,71
S28C	-0,08	0,04	0,10	0,08	0,08	0,08	0,00	0,04	0,03	0,00	-0,06	0,01	0,03	0,03	0,03	0,05	0,05	0,05	0,45
S28D	0,16	-0,30	-0,04	0,00	-0,02	0,01	-0,05	-0,03	-0,08	0,01	-0,24	-0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31
S28E	0,11	-0,33	-0,06	0,13	0,11	0,08	-0,02	0,05	0,06	-0,45	-0,35	-0,11	0,01	0,01	0,01	0,05	0,05	0,05	0,61
S28F	-0,03	0,04	0,06	-0,09	-0,09	-0,13	-0,23	-0,16	-0,62	-0,11	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,03	0,36
S28G	-0,13	-0,13	0,04	-0,09	-0,11	-0,08	0,04	-0,03	-0,08	-0,41	-0,38	-0,22	-0,02	-0,02	-0,02	0,03	0,03	0,00	0,66
S28H	0,66	0,24	-0,04	0,07	0,02	0,03	0,05	0,09	0,28	0,92	0,53	0,16	0,14	0,06	0,02	0,00	0,00	0,00	0,12
S28I	-0,29	-0,10	-0,02	-0,19	-0,17	-0,13	-0,12	-0,19	-0,21	-0,84	-0,66	-0,45	0,09	0,09	0,09	0,07	0,07	0,07	0,43
S28K	-0,15	-0,31	0,44	-0,03	-0,04	0,01	0,12	0,07	0,00	-0,43	-0,49	-0,15	-0,01	-0,01	-0,01	0,07	0,07	0,07	1,10
S28L	-0,28	-0,25	-0,05	-0,14	-0,13	-0,06	-0,01	-0,18	-0,26	-0,25	-0,31	-0,38	0,06	0,06	0,06	0,04	0,04	0,04	0,31
S28M	0,00	-0,13	-0,05	-0,08	0,01	0,02	-0,34	-0,14	-0,04	-0,45	-0,02	-0,13	0,29	0,29	0,29	0,10	0,10	0,10	0,27
S28N	-0,19	-0,11	-0,02	-0,12	-0,15	-0,13	-0,02	-0,09	-0,12	-0,59	-0,49	-0,13	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,11	0,64
S28P	-0,69	-0,62	-0,07	-0,32	-0,29	-0,25	-0,07	-0,38	-0,25	-1,22	-0,78	-0,68	0,14	0,14	0,14	0,04	0,04	0,04	0,18
S28Q	-0,12	-0,04	0,05	-0,07	-0,16	-0,06	-0,04	-0,06	-0,10	-0,64	-0,41	-0,11	0,04	0,04	0,04	0,08	0,08	0,08	0,76
S28R	-0,03	-0,05	0,60	-0,08	-0,06	0,02	0,05	0,03	-0,05	-0,19	-0,38	-0,04	0,05	0,05	0,05	0,11	0,11	0,11	0,89
S28T	0,02	-0,08	-0,05	-0,01	-0,07	-0,03	0,08	0,03	-0,02	-0,34	-0,29	0,10	0,03	0,03	0,03	0,05	0,05	0,05	0,52
S28V	-0,04	-0,10	-0,04	-0,07	-0,02	0,01	-0,06	-0,07	-0,09	-0,08	-0,17	-0,19	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,41
S28W	-0,03	0,50	-0,05	-0,08	-0,11	-0,14	-0,01	-0,09	0,01	-0,21	-0,31	-0,37	-0,11	-0,08	-0,06	0,00	0,00	0,00	0,26
S28Y	-0,34	-0,20	-0,01	-0,16	-0,13	-0,07	-0,08	-0,14	-0,13	-0,47	-0,08	-0,31	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,43
Q29A	-0,01	-0,21	-0,15	0,02	-0,02	0,00	-0,03	-0,02	-0,06	0,10	0,00	-0,18	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	0,35
Q29C	-0,20	-0,45	-0,01	-0,05	-0,11	-0,07	-0,15	-0,06	-0,20	-0,45	-0,33	-0,31	0,11	0,11	0,11	0,04	0,04	0,04	0,52
Q29D	-0,26	-0,39	-0,18	-0,05	-0,11	-0,04	0,21	0,06	0,19	-0,12	-0,28	-0,23	0,07	0,07	0,07	0,02	0,02	0,02	0,40
Q29E	-0,04	0,07	-0,08	0,06	0,01	0,08	-0,02	0,04	0,23	-0,22	-0,18	-0,09	0,01	0,01	0,01	-0,01	-0,01	-0,01	0,48
Q29F	-0,50	-0,18	-0,02	-0,04	-0,17	-0,06	-0,22	-0,12	-0,43	-0,01	-0,23	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32
Q29G	-0,04	-0,26	-0,10	0,03	-0,05	0,01	0,29	0,03	0,22	-0,03	-0,03	0,09	0,05	0,05	0,05	0,01	0,01	0,01	0,60
Q29H	0,27	-0,28	-0,07	-0,02	-0,03	-0,13	0,03	-0,09	0,01	-0,03	-0,01	-0,16	-0,02	-0,09	-0,12	-0,02	-0,02	-0,02	0,20
Q29I	-0,28	-0,67	-0,17	-0,12	-0,20	-0,11	0,12	0,06	-0,12	-0,37	-0,26	-0,57	0,14	0,14	0,14	0,04	0,04	0,04	0,40
Q29K	-0,03	-0,22	-0,08	0,08	-0,01	0,07	0,15	0,04	0,02	-0,27	0,00	-0,03	0,03	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,93
Q29L	-0,39	-0,71	-0,14	-0,17	-0,22	-0,17	0,01	-0,08	-0,28	-0,67	-0,52	-0,50	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	0,42
Q29M	-0,27	-0,46	-0,08	-0,04	-0,10	-0,08	-0,12	-0,10	-0,27	-0,31	-0,32	-0,23	0,14	0,14	0,14	0,05	0,05	0,05	0,47
Q29N	0,05	-0,23	0,00	0,05	0,01	0,05	0,05	0,12	-0,02	0,13	0,03	0,04	0,01	0,01	0,01	-0,01	-0,01	-0,01	0,66
Q29P	-1,10	-1,01	-0,18	-0,30	-0,45	-0,32	-0,18	-0,18	-0,14	-0,78	-0,67	-0,64	0,13	0,13	0,13	0,00	0,00	0,00	0,19
Q29R	0,11	-0,16	-0,09	0,04	-0,01	0,06	0,10	0,02	-0,05	-0,02	-0,05	-0,18	0,07	0,07	0,07	0,03	0,03	0,03	0,70
Q29S	-0,09	-0,34	-0,10	-0,04	-0,12	-0,07	0,02	-0,03	-0,18	-0,14	-0,25	-0,38	-0,04	-0,04	-0,04	-0,03	-0,03	-0,03	0,48
Q29T	-0,16	-0,29	-0,02	-0,10	-0,13	-0,11	0,07	0,06	0,03	-0,77	-0,68	-0,52	0,06	0,06	0,06	0,03	0,03	0,03	0,72
Q29V	-0,25	-0,29	-0,13	-0,14	-0,18	-0,09	-0,09	-0,07	-0,14	-0,39	-0,47	-0,51	0,15	0,15	0,15	0,05	0,05	0,05	0,39
Q29W	-0,04	-0,23	-0,11	0,00	-0,02	0,02	0,00	0,06	0,00	-0,59	-0,23	-0,34	0,03	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,52
Q29Y	-0,35	-0,55	-0,17	-0,08	-0,08	-0,05	0,01	-0,10	-0,06	-0,33	-0,48	-0,35	-0,02	-0,02	-0,02	-0,03	-0,03	-0,03	0,39
G30A	-0,31	-0,10	-0,03	-0,08	-0,12	-0,08	0,01	0,02	-0,14	-0,26	-0,22	-0,26	-0,10	-0,07	0,00	0,04	0,06	0,16	0,27
G30C	-0,29	-0,05	-0,02	-0,07	-0,09	-0,08	0,11	0,06	-0,06	-0,34	-0,40	-0,35	-0,14	-0,07	-0,04	0,04	0,06	0,15	0,28
G30D	-0,29	0,04	0,08	-0,10	-0,13	-0,05	-0,03	0,00	0,00	-0,30	-0,30	-0,20	-0,06	0,03	0,02	0,07	0,12	0,29	0,47
G30E	-0,24	-0,11	-0,03	-0,08	-0,12	-0,09	0,03	0,04	-0,08	-0,50	-0,56	-0,38	-0,13	-0,16	-0,12	0,03	0,06	0,13	0,26
G30F	-0,36	-0,20	0,08	-0,12	-0,18	-0,05	-0,02	-0,02	-0,05	-0,54	-0,69	-0,45	-0,21	-0,18	-0,21	0,02	0,04	0,10	0,22
G30H	-0,24	-0,14	-0,04	-0,08	-0,11	-0,10	-0,01	-0,04	-0,12	0,15	-0,08	-0,07	0,02	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,31
G30I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,01	0,01	0,07
G30K	-0,21	0,04	0,06	-0,08	-0,11	-0,08	0,10	0,02	-0,05	0,02	-0,16	0,03	-0,03	-0,02	0,00	0,08	0,09	0,24	0,41
G30L	-0,40	-0,46	-0,09	-0,14	-0,18	-0,13	-0,11	-0,12	-0,08	-0,43	-0,58	-0,50	-0,27	-0,18	-0,11	0,01	0,03	0,08	0,20
G30M	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
G30N	-0,10	0,12	0,20	-0,04	-0,04	0,01	0,03	0,05	0,07	-0,16	0,11	0,00	0,07	0,09	0,11	0,15	0,21	0,44	0,66
G30P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,07
G30Q	-0,23	0,01	0,07	-0,04	-0,10	-0,05	-0,14	-0,05	-0,13	0,00	-0,39	-0,09	-0,01	-0,02	-0,02	0,07	0,10	0,21	0,36
G30R	-0,13	-0,01	-0,06	-0,06	-0,09	-0,06	-0,06	0,04	-0,05	-0,17	-0,33	-0,20	0,03	-0,05	0,00	0,07	0,12	0,24	0,36
G30S	-0,18	-0,02	0,02	-0,07	-0,08	-0,04	0,03	0,01	0,01	-0,22	-0,29	-0,16	-0,01	-0,03	-0,05	0,09	0,12	0,27	0,45
G30T	-0,36	-0,44	-0,08	-0,16	-0,19	-0,13	-0,06	-0,05	-0,12	-0,35	-0,59	-0,39	-0,21	-0,16	-0,11	0,02	0,04	0,10	0,23
G30V	-0,67	-0,79	-0,10	-0,16	-0,23	-0,19	-0,15	-0,21	-0,18	-0,63	-0,63	-0,62	-0,35	-0,26	-0,13	0,01	0,02	0,03	0,14
G30W	-0,51	-0,67	-0,08	-0,10	-0,15	-0,06	-0,11	-0,11	-0,17	-0,66	-0,62	-0,47	-0,35	-0,24	-0,15	0,01	0,02	0,04	0,17
G30Y	-0,40	-0,43	-0,06	-0,17	-0,21	-0,12	-0,05	-0,12	-0,13	-0,37	-0,56	-0,35	-0,28	-0,20	-0,18	0,02	0,03	0,09	0,20
W31A	-0,27	-0,59	-0,09	-0,22	-0,19	-0,15	-0,08	-0,08	-0,21	-0,49	-0,40	-0,45	0,89	-0,96	-0,58	0,10	0,35	0,27	0,24
W31C	0,08	-0,26	-0,11	0,01	-0,03	-0,02	0,02	0,03	-0,04	0,78	0,41	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17
W31D	-0,48	-0,68	-0,07	-0,28	-0,23	-0,19	-0,25	-0,28	-0,28	-0,83	-0,64	-0,67	1,23	-0,70	-0,49	0,06	0,13	0,12	0,12
W31E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,03	0,10
W31F	0,03	-0,29	-0,05	0,08	0,04	0,03	-0,01	0,00	0,08	0,20	0,12	0,03	1,27	-0,19	-0,35	0,24	0,80	0,59	0,41
W31G	-0,54	-0,99	-0,06	-0,31	-0,30	-0,23	-0,21	-0,18	-0,10	-0,97	-0,83	-0,77	0,54	-0,49	-0,72	0,04	0,11	0,00	0,11
W31H	0,10	-0,20	-0,09	0,01	-0,14	-0,08	0,02	-0,04	0,17	0,24	-0,20	-0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33
W31I	-0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,37
W31K	-0,42	-0,85	-0,14	-0,18	-0,20	-0,19	-0,06	-0,19	-0,31	-0,40	-0,46	-0,40	1,29	-1,25	-0,51	0,12	0,39	0,29	0,21
W31L	-0,20	-0,54	-0,09	-0,09	-0,13	-0,12	-0,02	0,08	-0,03	-0,33	-0,20	-0,22	0,08	-0,96	-0,64	0,22	0,82	0,59	0,52
W31M	-0,10	-0,25	-0,06	0,00	-0,04	-0,05	0,02	0,02	-0,02	-0,03	-0,02	-0,05	-0,87	-0,67	-0,40	0,32	1,16	0,77	0,70
W31N	-0,60	-1,01	-0,16	-0,32	-0,32	-0,25	-0,25	-0,26	-0,27	-0,77	-0,67	-0,72	-0,51	-1,42	-0,72	0,03	0,06	0,06	0,10
W31P	-	-0,22	-0,07	-0,04	-0,07	-0,08	-0,09	-0,06	-0,05	0,01	0,16	-0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
W31Q	-0,53	-0,83	-0,14	-0,32	-0,26	-0,24	-0,25	-0,38	-0,24	-0,60	-0,42	-0,64	0,00	-1,61	-0,47	0,05	0,15	0,10	0,12
W31R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
W31S	-0,59	-0,87	-0,14	-0,25	-0,27	-0,23	-0,17	-0,18	-0,14	-0,86	-0,67	-0,73	-0,26	-1,30	-0,62	0,04	0,13	0,12	0,13
W31T	-0,52	-0,91	-0,14	-0,33	-0,28	-0,24	-0,14	-0,13	-0,11	-0,75	-0,62	-0,62	-0,50	-1,75	-0,56	0,05	0,14	0,08	0,14
W31V	-0,26	-0,58	-0,12	-0,13	-0,16	-0,14	-0,06	-0,13	-0,20	-0,24	-0,19	-0,21	0,51	-0,97	-0,63	0,16	0,60	0,42	0,39
W31Y	0,43	-0,38	-0,06	0,02	0,01	-0,17	0,10	0,08	0,22	1,04	0,38	-0,09	-0,02	-0,15	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,10
S32A	-0,12	-0,05	-0,02	-0,04	-0,02	0,01	0,05	-0,09	-0,01	0,12	-0,04	0,07	-0,69	-0,49	-0,18	0,24	0,75	0,57	0,44
S32C	0,00	0,08	0,02	0,01	0,07	0,10	0,06	-0,08	-0,01	0,16	0,18	0,13	0,27	-0,25	-0,26	0,15	0,56	0,43	0,34
S32D	0,01	-0,04	-0,05	0,02	0,02	0,05	-0,06	-0,08	0,05	0,28	0,24	0,18	-0,83	-0,81	-0,51	0,21	0,68	0,50	0,53
S32E	-0,19	-0,22	-0,01	-0,04	-0,04	-0,02	-0,09	-0,17	-0,04	-0,15	-0,12	0,01	-0,09	-0,04	-0,12	0,24	0,67	0,54	0,36
S32F	-0,28	0,00	0,11	-0,06	-0,06	-0,03	-0,02	-0,06	0,00	-0,05	-0,02	0,02	-1,10	-0,91	-0,47	0,17	0,52	0,47	0,55
S32G	-0,13	-0,06	-0,04	-0,07	-0,05	-0,04	0,00	-0,05	-0,01	0,09	-0,06	-0,01	-0,31	-0,66	-0,44	0,16	0,57	0,41	0,37
S32H	-0,02	0,10	0,00	-0,01	0,00	0,02	0,02	-0,05	0,02	0,28	0,10	0,20	-0,42	-0,53	-0,30	0,23	0,77	0,58	0,45
S32I	-0,12	0,11	0,16	-0,03	-0,02	0,03	-0,01	-0,06	-0,09	-0,11	0,12	0,08	-1,29	-1,14	-0,69	0,13	0,49	0,37	0,44
S32K	-0,07	0,18	0,04	-0,04	0,01	0,02	0,05	0,00	-0,02	0,48	0,43	0,35	-1,44	0,00	-0,10	0,29	0,93	0,64	0,51
S32L	-0,09	-0,10	0,00	-0,04	-0,04	0,00	0,01	-0,11	-0,08	0,15	0,08	0,16	-1,00	-0,73	-0,42	0,19	0,50	0,42	0,51
S32M	-0,12	-0,18	-0,03	-0,08	-0,05	-0,02	0,04	-0,07	-0,07	0,03	0,09	0,07	-0,97	-1,14	-0,65	0,15	0,53	0,38	0,49

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
S32N	-0,07	-0,17	-0,07	-0,04	-0,05	0,01	0,05	-0,04	-0,03	0,17	0,05	0,12	-0,99	-0,80	-0,53	0,21	0,75	0,51	0,48
S32P	-0,03	-0,09	-0,04	-0,06	-0,03	-0,01	0,08	-0,02	0,01	0,18	0,06	0,15	-0,60	-0,42	-0,38	0,22	0,83	0,56	0,45
S32Q	0,02	-0,29	-0,06	-0,18	-0,23	-0,22	-0,01	-0,05	-0,05	0,15	-0,01	-0,01	0,01	-0,19	-0,26	0,00	0,00	0,00	0,44
S32R	-0,12	0,12	0,08	-0,01	0,00	0,02	0,02	0,00	0,03	0,29	0,18	0,40	-0,89	-0,56	-0,17	0,25	0,89	0,59	0,54
S32T	-0,06	0,09	-0,01	-0,03	0,00	0,01	0,05	-0,08	0,01	0,14	0,04	0,11	-0,74	-0,64	-0,35	0,20	0,66	0,49	0,44
S32V	-0,04	0,14	0,07	0,01	0,00	0,05	0,09	-0,06	0,06	0,05	-0,10	0,12	-1,03	-1,11	-0,65	0,13	0,26	0,33	0,44
S32W	-0,09	-0,22	-0,04	-0,12	-0,13	-0,12	-0,21	-0,20	-0,11	-0,33	-0,27	-0,44	-0,10	-0,08	-0,07	0,00	0,00	0,00	0,31
S32Y	-0,24	-0,12	0,08	-0,03	-0,04	-0,03	0,00	-0,12	-0,11	-0,21	-0,19	-0,07	-0,93	-0,85	-0,69	0,12	0,41	0,31	0,43
R33A	-0,06	-0,59	-0,03	-0,05	-0,07	0,00	-0,05	-0,03	-0,21	-0,21	-0,36	-0,18	1,38	0,02	-0,93	0,18	0,59	0,43	0,35
R33C	-0,19	-0,21	0,08	0,04	0,02	0,12	-0,11	-0,09	-0,17	0,01	-0,12	-0,03	0,57	-0,60	-1,19	0,11	0,40	0,29	0,46
R33D	-0,08	-0,09	0,18	0,08	0,13	0,11	-0,01	0,21	-0,06	-0,30	-0,26	-0,05	0,14	-0,76	-1,24	0,23	0,67	0,50	0,74
R33E	0,06	-0,10	0,07	0,05	0,05	0,07	-0,03	-0,02	-0,10	-0,20	-0,13	-0,03	0,04	-0,57	-1,07	0,29	0,71	0,61	0,55
R33F	-0,29	-0,48	-0,05	-0,06	-0,10	0,00	-0,09	-0,11	-0,19	-0,27	-0,38	-0,30	1,19	-0,25	-1,06	0,13	0,39	0,30	0,39
R33G	0,03	-0,29	-0,04	0,02	0,00	0,05	-0,08	0,03	-0,11	-0,08	-0,11	0,00	0,72	-0,52	-1,23	0,17	0,55	0,25	0,52
R33H	-0,13	-0,43	-0,05	-0,07	-0,06	0,01	-0,11	0,01	-0,20	-0,26	-0,15	-0,17	1,28	-0,32	-0,92	0,16	0,47	0,35	0,41
R33I	-0,18	-0,18	-0,01	0,02	-0,03	0,01	-0,06	-0,08	-0,19	-0,04	-0,06	-0,02	1,17	-0,14	-1,02	0,13	0,43	0,32	0,37
R33K	0,02	-0,46	-0,07	-0,01	-0,05	0,03	-0,04	-0,09	-0,13	0,18	0,08	0,03	-0,76	-1,56	-0,38	0,50	0,62	0,42	0,47
R33L	-0,12	-0,26	0,02	-0,04	-0,09	0,01	-0,08	0,02	-0,16	-0,29	-0,38	-0,23	0,96	-0,51	-1,07	0,11	0,29	0,24	0,41
R33M	-0,15	-0,24	0,05	0,01	-0,03	0,03	-0,05	-0,12	-0,17	-0,15	-0,32	-0,04	0,48	-0,56	-1,17	0,13	0,37	0,31	0,43
R33N	-0,16	-0,45	-0,05	-0,03	-0,07	0,02	-0,04	-0,08	-0,23	-0,04	-0,26	-0,17	0,97	0,15	-0,82	0,25	0,78	0,56	0,41
R33P	-0,30	-0,63	-0,06	-0,06	-0,07	-0,01	-0,10	-0,18	-0,28	-0,23	-0,32	-0,22	1,96	0,20	-0,95	0,20	0,65	0,49	0,37
R33Q	-0,26	-0,72	-0,05	-0,07	-0,09	-0,07	-0,06	-0,16	-0,19	-0,40	-0,50	-0,38	1,51	0,81	-0,36	0,33	0,91	0,66	0,29
R33S	-0,07	-0,44	-0,02	-0,03	-0,03	0,03	-0,08	-0,07	-0,16	-0,16	-0,19	-0,05	0,40	-0,40	-0,76	0,26	0,83	0,55	0,46
R33T	0,05	-0,23	0,02	0,04	0,01	0,08	-0,04	0,00	-0,11	0,03	0,31	0,37	0,38	-0,53	-1,05	0,15	0,59	0,43	0,46
R33V	-0,16	-0,49	-0,05	-0,07	-0,06	0,01	-0,05	-0,07	-0,21	-0,20	-0,14	-0,04	0,93	-0,57	-1,20	0,11	0,32	0,27	0,37
R33W	-0,18	-0,19	0,01	-0,01	-0,05	0,06	-0,01	-0,08	-0,17	-0,24	-0,26	-0,10	0,97	-0,25	-1,05	0,13	0,38	0,33	0,40
R33Y	-0,21	-0,38	-0,02	-0,03	-0,04	0,03	-0,07	-0,11	-0,20	-0,30	-0,16	-0,21	1,02	-0,58	-1,11	0,12	0,38	0,29	0,44
D34A	0,05	0,36	0,12	-0,01	0,01	0,02	0,03	-0,03	0,01	0,05	0,25	0,10	0,04	0,02	0,01	0,15	0,17	0,35	0,41
D34C	-0,65	-0,33	0,40	0,03	-0,14	-0,14	-0,29	-0,13	-0,23	-0,71	-0,78	-0,54	0,05	0,09	0,07	0,08	0,09	0,20	0,25
D34E	-0,05	-0,11	0,11	-0,02	0,02	0,02	0,05	-0,05	-0,08	-0,25	-0,12	-0,22	-0,20	-0,07	-0,03	0,09	0,09	0,26	0,34
D34F	-0,04	0,21	0,23	-0,01	-0,05	0,01	-0,03	0,14	-0,04	-0,24	-0,10	0,28	0,15	0,16	0,13	0,16	0,17	0,38	0,37
D34G	-0,03	0,10	0,05	-0,02	-0,05	-0,01	-0,05	0,11	-0,05	-0,14	0,01	0,08	0,01	-0,06	-0,02	0,15	0,19	0,34	0,44
D34H	-0,04	0,28	0,13	-0,03	0,03	-0,01	0,04	-0,01	0,02	0,23	0,30	0,34	0,03	0,03	0,04	0,14	0,13	0,36	0,39
D34I	-0,28	0,23	0,12	-0,09	-0,12	-0,06	-0,08	-0,27	-0,27	-0,25	-0,40	-0,35	-0,03	0,11	0,08	0,12	0,12	0,28	0,35
D34K	-0,07	0,33	0,39	-0,02	-0,04	-0,01	0,04	-0,10	-0,03	-0,13	-0,15	-0,01	0,07	-0,10	-0,07	0,19	0,22	0,44	0,51
D34L	-0,16	0,27	0,26	-0,04	-0,05	-0,03	0,04	0,05	-0,02	-0,37	-0,34	-0,17	0,09	0,09	0,08	0,19	0,29	0,51	0,56
D34M	-0,12	0,14	0,06	0,01	-0,03	-0,03	-0,29	-0,02	-0,06	0,55	0,43	0,55	0,04	0,20	0,10	0,08	0,15	0,37	0,35
D34N	-0,02	0,28	0,19	0,01	0,00	0,03	0,15	-0,11	-0,06	0,15	0,49	-0,03	0,13	0,11	-0,01	0,14	0,14	0,32	0,34
D34P	-0,22	-0,04	0,07	-0,09	-0,10	-0,12	-0,04	0,07	-0,03	-0,27	-0,14	-0,33	-0,16	-0,07	-0,01	0,08	0,09	0,22	0,29
D34Q	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D34R	-0,22	0,11	0,26	-0,04	-0,08	-0,10	0,03	0,04	0,07	0,04	0,12	0,19	-0,29	-0,11	-0,01	0,07	0,07	0,17	0,25
D34S	0,00	0,27	0,14	-0,01	0,00	0,01	0,03	0,02	0,04	0,04	0,03	-0,01	-0,02	0,06	0,08	0,18	0,21	0,42	0,55
D34T	-0,04	0,28	0,09	-0,03	-0,03	-0,02	0,08	0,04	0,04	-0,11	0,17	0,02	0,06	-0,06	-0,03	0,15	0,16	0,38	0,42
D34V	-0,09	0,17	0,24	-0,04	-0,05	0,01	0,04	0,14	0,07	-0,08	-0,09	-0,23	-0,04	0,17	0,18	0,20	0,28	0,49	0,59
D34W	-0,13	0,41	0,70	0,03	0,00	0,02	0,06	-0,04	-0,10	-0,04	0,01	-0,05	0,10	0,20	0,16	0,19	0,26	0,48	0,55
D34Y	0,07	0,62	0,25	-0,01	-0,01	0,01	0,03	-0,10	-0,14	-0,35	-0,14	-0,05	0,17	0,17	0,11	0,13	0,13	0,34	0,35
K35A	0,15	0,14	0,00	-0,02	0,06	0,05	-0,09	0,00	0,05	0,15	-0,01	0,09	0,00	-0,06	-0,10	0,12	0,38	0,29	0,62
K35C	0,10	0,03	-0,02	0,08	0,17	0,16	-0,04	-0,05	0,03	0,14	0,17	0,01	-0,21	0,10	0,16	0,17	0,46	0,36	0,69
K35D	0,05	-0,09	-0,05	-0,07	0,05	0,05	-0,02	0,03	0,08	0,02	0,10	0,11	-0,26	0,12	0,01	0,18	0,53	0,40	0,71
K35E	-0,01	0,01	0,00	-0,02	0,09	0,05	-0,06	0,00	0,08	0,06	-0,02	0,01	-0,18	0,10	0,04	0,21	0,63	0,56	0,83
K35F	0,05	-0,04	0,01	-0,03	0,00	0,02	0,01	-0,03	0,04	0,14	-0,01	0,05	-0,32	-0,05	-0,03	0,17	0,48	0,37	0,69
K35G	0,00	0,03	-0,04	-0,07	0,02	0,00	-0,01	-0,12	0,03	0,00	-0,04	-0,07	0,15	0,15	0,11	0,10	0,32	0,19	0,42
K35H	0,04	0,00	-0,03	-0,02	0,03	-0,02	0,07	-0,02	-0,01	0,01	-0,06	-0,15	-0,16	0,07	-0,11	0,11	0,36	0,32	0,48
K35I	0,09	0,02	-0,01	-0,07	0,00	0,01	-0,07	-0,05	0,00	-0,01	0,04	-0,10	-0,01	0,24	0,15	0,12	0,42	0,34	0,56
K35L	0,05	0,10	0,03	-0,04	0,02	0,01	-0,03	-0,03	0,02	0,06	-0,09	-0,11	0,04	0,03	-0,02	0,11	0,37	0,27	0,57
K35M	-0,04	0,08	0,06	-0,06	0,02	0,02	-0,03	-0,11	-0,01	0,00	0,10	0,04	0,05	-0,04	0,00	0,11	0,34	0,24	0,55
K35N	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K35P	-0,18	-0,35	-0,06	-0,18	-0,12	-0,21	-0,05	-0,20	-0,03	-0,05	-0,22	-0,21	-0,20	-0,15	-0,12	0,03	0,09	0,07	0,24
K35Q	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K35R	0,00	-0,05	0,02	-0,05	0,06	-0,01	0,01	-0,04	0,02	-0,05	0,04	-0,03	0,07	-0,03	-0,05	0,08	0,27	0,18	0,41
K35S	0,09	0,10	0,00	0,04	0,09	0,06	-0,03	-0,03	0,09	0,02	0,13	-0,07	0,15	0,03	-0,10	0,12	0,38	0,29	0,48
K35T	0,00	-0,01	-0,04	0,01	0,05	0,03	-0,01	-0,01	0,01	0,13	-0,03	-0,07	-0,01	0,32	-0,01	0,16	0,46	0,37	0,53
K35V	0,05	0,00	-0,01	-0,04	0,05	0,06	-0,04	-0,01	0,13	0,07	0,01	0,01	-0,33	0,12	0,01	0,17	0,63	0,49	0,69
K35W	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K35Y	-0,09	-0,11	0,05	0,00	0,03	0,09	-0,02	-0,05	0,08	0,11	0,05	0,09	-0,53	-0,12	0,11	0,19	0,54	0,38	0,90
L36A	0,03	0,10	0,06	-0,18	-0,17	-0,10	-0,07	-0,11	-0,05	0,12	0,03	0,24	0,17	-0,32	-0,14	0,08	0,23	0,18	0,30
L36C	0,01	-0,01	0,06	-0,01	-0,02	0,05	-0,14	-0,05	0,05	0,38	0,05	-0,16	-0,34	0,06	-0,01	0,21	0,62	0,40	0,67
L36D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,04
L36E	-0,13	-0,52	-0,08	-0,29	-0,29	-0,25	-0,25	-0,22	-0,28	-0,29	-0,60	-0,60	-0,04	-0,57	-0,45	0,02	0,06	0,05	0,11
L36F	-0,15	-0,69	-0,09	-0,07	-0,08	-0,07	0,04	-0,11	-0,30	-0,03	-0,20	-0,16	0,10	-0,52	-0,31	0,08	0,23	0,17	0,33
L36G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,08	0,00	0,10
L36H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
L36I	0,05	-0,20	-0,04	0,01	-0,01	-0,01	0,06	-0,02	-0,09	-0,06	0,06	0,11	0,04	-0,38	-0,19	0,11	0,36	0,30	0,42
L36K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,07
L36M	0,60	-0,25	-0,06	0,07	0,12	0,01	0,12	0,04	0,30	1,38	0,64	0,19	0,36	0,08	0,01	0,00	0,00	0,00	0,10
L36N	-0,01	0,03	0,01	-0,22	-0,18	-0,10	-0,01	-0,12	-0,09	0,02	-0,07	-0,04	0,37	-0,17	-0,05	0,05	0,16	0,11	0,25
L36P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,02	0,07
L36Q	-0,06	-0,16	-0,02	-0,13	-0,11	-0,04	0,01	-0,08	-0,12	0,21	-0,02	-0,07	0,18	-0,16	-0,07	0,11	0,37	0,25	0,47
L36R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,04
L36S	0,08	0,09	-0,04	-0,16	-0,16	-0,08	0,12	-0,09	-0,16	0,31	-0,05	0,08	0,74	0,30	0,01	0,05	0,19	0,16	0,23
L36T	0,08	0,05	0,03	-0,08	-0,08	-0,01	0,00	-0,02	0,02	0,39	0,23	0,30	-0,34	-0,09	-0,13	0,21	0,57	0,46	0,68
L36V	0,17	-0,24	0,02	-0,08	-0,05	-0,07	0,01	0,24	-0,18	0,11	0,06	-0,45	-0,34	0,11	-0,16	0,13	0,33	0,19	0,51
L36W	-0,12	-0,85	-0,07	-0,29	-0,33	-0,24	-0,17	-0,32	-0,47	-0,38	-0,44	-0,49	0,06	-0,59	-0,23	0,08	0,27	0,21	0,38
L36Y	-0,01	-0,27	-0,08	-0,17	-0,17	-0,08	0,16	-0,07	-0,22	0,10	-0,03	-0,15	-0,08	-0,41	-0,28	0,09	0,27	0,23	0,32
Y37A	-0,17	-0,23	0,35	0,09	0,08	0,14	0,04	0,09	0,25	0,32	0,10	0,24	-0,52	-0,26	-0,11	0,31	0,49	0,51	0,98
Y37C	-0,17	-0,04	0,10	-0,03	0,03	0,04	-0,13	-0,08	-0,05	-0,10	0,21	-0,04	-0,20	-0,04	0,03	0,20	0,55	0,46	0,76
Y37D	-0,47	-0,50	-0,06	-0,15	-0,12	-0,07	-0,20	-0,22	-0,31	-0,14	-0,11	-0,31	0,24	-0,39	-0,32	0,02	0,07	0,07	0,20
Y37E	-0,39	-0,41	0,05	-0,10	-0,08	-0,04	-0,01	-0,04	-0,08	0,07	-0,03	-0,11	0,16	-0,16	-0,18	0,09	0,29	0,23	0,48
Y37F	-0,05	0,02	0,02	0,00	-0,03	0,03	-0,02	0,08	-0,01	0,05	0,02	0,04	0,11	-0,17	-0,07	0,13	0,34	0,24	0,50
Y37G	-0,37	-0,27	0,01	-0,08	-0,06	-0,02	-0,08	-0,09	-0,16	0,02	-0,03	-0,09	0,26	-0,23	-0,16	0,05	0,18	0,15	0,31
Y37H	0,25	-0,34	-0,06	-0,03	-0,10	-0,04	-0,12	-0,02	-0,05	-0,43	0,00	-0,42	-0,10	-0,13	-0,09	0,00	0,00	0,00	0,18
Y37I	-0,08	-0,13	-0,02	0,05	0,05	0,08	0,04	0,09	0,08	0,17	0,00	0,24	-0,29	-0,11	-0,19	0,13	0,39	0,28	0,62
Y37K	-0,04	-0,19	0,33	0,11	0,11	0,13	0,11	0,11	0,09	0,29	0,15	0,21	-0,63	-0,31	0,13	0,30	0,47	0,48	0,92
Y37L	-0,24	-0,18	0,15	0,07	0,07	0,08	0,00	0,02	0,05	0,20	0,09	0,02	-0,39	-0,17	-0,02	0,22	0,52	0,42	0,95
Y37M	0,43	0,03	0,05	0,04	-0,20	-0,07	0,24	0,51	0,30	0,00	0,21	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42
Y37N	-0,23	-0,03	0,05	-0,09	-0,07	-0,03	-0,03	-0,10	-0,04	0,04	-0,12	-0,19	0,13	-0,11	-0,16	0,09	0,30	0,26	0,50
Y37P	-0,61	-0,81	-0,08	-0,18	-0,18	-0,09	-0,23	-0,26	-0,23	-0,31	-0,20	-0,41	0,10	-0,53	-0,21	0,02	0,08	0,06	0,19
Y37Q	0,38	0,54	0,07	0,12	-0,09	0,14	0,19	0,31	0,19	-0,04	0,14	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38
Y37R	-0,05	-0,01	0,18	0,05	0,04	0,05	0,05	0,06	0,08	0,25	0,18	0,26	-0,32	-0,22	0,05	0,18	0,50	0,43	0,74
Y37S	-0,25	-0,06	0,03	0,03	0,01	0,05	-0,06	-0,02	0,03	0,09	0,05	-0,01	0,00	-0,10	-0,17	0,14	0,40	0,30	0,56

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
Y37T	0,01	0,15	0,18	0,07	0,11	0,11	0,04	0,08	0,02	0,34	0,27	0,18	-0,21	-0,02	0,02	0,22	0,52	0,46	0,59
Y37V	-0,21	-0,24	0,07	0,04	0,06	0,11	0,00	-0,03	0,05	0,07	0,05	0,14	-0,48	-0,32	-0,08	0,23	0,52	0,45	0,91
Y37W	-0,25	-0,23	-0,02	0,00	-0,02	0,03	-0,09	0,03	-0,08	-0,23	-0,09	-0,02	0,08	-0,14	-0,07	0,09	0,24	0,16	0,52
A38C	-0,10	-0,64	-0,10	-0,01	0,00	-0,01	-0,11	-0,11	-0,22	-0,35	-0,24	-0,21	0,15	0,06	-0,04	0,12	0,38	0,28	0,35
A38D	-0,77	-0,45	-0,10	-0,23	-0,24	-0,33	-0,41	-0,36	-0,29	-0,69	-0,93	-0,83	-0,24	-0,27	-0,22	0,00	0,00	0,00	0,32
A38E	-0,29	-1,21	-0,15	-0,08	-0,07	-0,08	-0,20	-0,29	-0,45	-0,31	-0,49	-0,55	0,05	-0,42	-0,27	0,08	0,32	0,25	0,38
A38F	-0,05	-0,64	-0,12	-0,02	-0,02	0,00	-0,19	-0,25	-0,34	-0,35	-0,28	-0,41	0,26	-0,29	-0,18	0,10	0,33	0,26	0,33
A38G	-0,06	0,08	-0,01	-0,01	0,00	0,01	0,04	0,03	-0,02	0,14	0,10	-0,08	-0,33	0,04	0,09	0,17	0,40	0,23	0,48
A38H	-0,21	-0,71	-0,10	-0,03	-0,02	-0,02	-0,16	-0,30	-0,39	0,20	0,01	-0,18	-0,15	-0,40	-0,20	0,10	0,29	0,22	0,39
A38I	-0,23	-1,21	-0,11	-0,01	-0,05	-0,07	-0,13	-0,16	-0,04	-0,56	-0,72	-0,79	-0,40	-0,45	-0,13	0,02	0,09	0,07	0,18
A38K	-0,10	-0,62	-0,12	-0,03	-0,02	-0,04	-0,15	-0,21	-0,46	-0,12	-0,15	-0,42	-0,37	-0,11	-0,15	0,12	0,46	0,35	0,50
A38L	-0,14	-0,60	-0,12	-0,01	-0,02	-0,02	-0,02	-0,10	-0,23	0,02	0,00	-0,13	0,04	-0,33	-0,20	0,07	0,18	0,15	0,32
A38M	-0,05	-0,67	-0,15	0,01	-0,01	0,00	0,01	-0,21	-0,15	-0,24	-0,11	-0,20	0,19	-0,17	-0,20	0,12	0,34	0,24	0,39
A38N	-0,08	-0,78	-0,12	-0,03	-0,03	-0,02	-0,17	-0,22	-0,31	0,04	-0,19	-0,29	-0,07	-0,06	-0,18	0,11	0,30	0,26	0,40
A38P	-0,19	-0,37	-0,08	-0,03	-0,02	-0,02	-0,01	-0,04	-0,12	-0,04	-0,07	-0,15	0,04	-0,03	-0,06	0,12	0,41	0,31	0,44
A38Q	-0,17	-0,64	-0,06	-0,05	-0,04	-0,06	-0,13	-0,14	-0,34	-0,23	-0,21	-0,17	-0,48	-0,33	-0,17	0,16	0,48	0,37	0,59
A38R	-0,18	-0,12	-0,02	-0,08	-0,25	-0,17	-0,07	0,10	0,08	0,56	0,20	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16
A38S	-0,01	-0,23	0,07	0,00	0,01	0,00	0,01	0,04	-0,05	0,19	-0,09	0,07	-0,33	-0,18	-0,07	0,12	0,32	0,27	0,45
A38T	0,35	-0,21	-0,08	0,03	0,02	0,02	0,01	0,01	-0,07	0,05	-0,15	-0,17	-0,26	0,05	-0,10	0,19	0,50	0,41	0,43
A38V	-0,20	-0,72	-0,10	-0,06	-0,06	-0,04	-0,18	-0,16	-0,21	0,05	-0,37	-0,43	0,40	-0,22	-0,22	0,08	0,27	0,20	0,29
A38W	-0,57	-0,98	-0,16	-0,03	-0,05	-0,02	-0,26	-0,29	-0,40	-0,16	-0,30	-0,34	0,07	-0,25	-0,22	0,08	0,25	0,20	0,25
A38Y	-0,21	-0,59	-0,08	-0,01	-0,03	-0,03	-0,17	-0,24	-0,30	-0,03	-0,12	-0,16	-0,35	-0,44	-0,20	0,07	0,16	0,12	0,33
V39A	-0,18	-0,27	-0,07	-0,07	-0,01	-0,02	-0,11	-0,09	-0,12	-0,16	-0,04	0,13	0,50	-0,14	-0,02	0,15	0,44	0,36	0,48
V39C	0,20	-0,27	-0,07	-0,04	-0,05	-0,18	-0,07	0,05	0,40	0,53	-0,32	-0,33	0,03	-0,34	-0,45	0,00	0,00	0,00	0,08
V39D	-0,27	-0,44	-0,06	-0,01	0,02	-0,03	0,03	-0,03	-0,27	-0,24	-0,19	-0,25	0,26	-0,51	-0,11	0,14	0,45	0,43	0,49
V39E	-0,22	-0,33	-0,04	-0,06	0,02	-0,02	-0,09	-0,12	-0,13	-0,24	-0,13	-0,20	-0,22	-0,49	-0,20	0,18	0,50	0,47	0,77
V39F	0,00	-0,69	-0,10	0,06	0,12	0,03	0,09	-0,02	-0,11	0,14	0,10	-0,09	0,44	-0,09	-0,16	0,24	0,49	0,48	0,64
V39G	-0,17	-0,37	-0,07	-0,08	-0,03	0,01	0,03	0,10	-0,08	0,07	0,11	0,07	-0,03	-0,24	-0,11	0,19	0,50	0,49	0,74
V39H	-0,19	-0,53	-0,08	-0,08	-0,05	-0,04	-0,10	-0,08	-0,17	-0,16	0,00	0,11	-0,01	-0,34	-0,11	0,18	0,52	0,50	0,67
V39I	-0,04	0,06	-0,02	-0,02	-0,01	-0,03	-0,07	-0,09	0,02	0,26	-0,01	0,16	0,12	0,14	0,13	0,22	0,55	0,48	0,63
V39K	-0,16	-0,51	-0,07	-0,05	0,01	0,04	-0,06	-0,05	-0,34	0,36	0,23	0,00	0,19	-0,42	-0,19	0,19	0,48	0,46	0,61
V39L	-0,03	-0,07	-0,02	0,01	-0,02	-0,02	-0,05	-0,06	0,01	-0,12	-0,08	-0,09	-0,04	0,05	-0,05	0,18	0,48	0,46	0,62
V39M	0,00	-0,22	-0,07	-0,01	-0,03	-0,02	0,00	-0,04	-0,14	-0,18	-0,15	-0,13	0,39	-0,17	-0,10	0,16	0,44	0,40	0,47
V39N	-0,04	-0,23	-0,08	-0,04	0,08	0,11	0,20	0,15	-0,01	0,42	0,66	0,00	-0,09	-0,09	-0,17	0,12	0,47	0,45	0,57
V39P	-0,21	-0,43	-0,09	-0,03	0,02	0,00	-0,04	-0,09	-0,19	-0,14	-0,01	0,10	0,47	-0,15	-0,06	0,16	0,46	0,37	0,50
V39Q	-0,31	-0,51	-0,04	-0,08	-0,07	0,00	-0,10	-0,21	-0,33	0,10	-0,06	-0,10	0,25	-0,46	-0,22	0,25	0,53	0,53	0,91
V39R	-0,23	-0,55	-0,06	-0,13	-0,06	-0,03	-0,14	-0,18	-0,32	0,02	0,00	-0,10	0,46	-0,42	-0,12	0,11	0,35	0,31	0,49
V39S	-0,17	-0,24	-0,05	-0,08	-0,02	-0,01	-0,03	-0,01	-0,08	0,00	0,05	0,10	0,38	-0,25	-0,11	0,18	0,54	0,50	0,72
V39T	-0,05	-0,41	-0,11	-0,06	-0,06	-0,02	-0,09	-0,05	-0,19	-0,20	-0,13	-0,11	0,54	-0,24	-0,06	0,13	0,39	0,34	0,47
V39W	-0,22	-0,84	-0,11	-0,10	-0,07	-0,06	-0,17	-0,26	-0,41	-0,12	-0,19	-0,28	0,33	-0,54	-0,22	0,13	0,43	0,40	0,51
V39Y	-0,23	-0,77	-0,10	-0,12	-0,08	-0,05	-0,14	-0,20	-0,34	-0,33	-0,31	-0,31	0,34	-0,50	-0,17	0,18	0,52	0,48	0,63
D40A	-0,01	-0,19	-0,05	-0,03	-0,03	-0,01	0,01	0,01	0,29	-0,17	-0,29	-0,59	0,03	-0,40	-0,10	0,07	0,22	0,20	0,35
D40C	-0,25	-0,50	-0,08	-0,03	0,01	0,02	-0,06	-0,23	0,03	-0,16	-0,24	-0,44	-0,04	-0,34	-0,04	0,05	0,14	0,14	0,26
D40E	-0,13	-0,11	-0,09	-0,03	-0,05	-0,03	-0,06	-0,12	-0,17	-0,28	0,05	-0,11	0,04	-0,21	-0,08	0,07	0,26	0,24	0,36
D40F	-0,31	-0,58	-0,02	-0,21	-0,22	-0,19	-0,10	-0,19	-0,11	-0,64	-0,64	-0,97	-0,48	-0,72	-0,31	0,03	0,08	0,09	0,26
D40G	0,10	-0,43	-0,01	0,03	0,02	0,06	0,09	-0,07	0,11	0,33	-0,11	-0,35	0,02	-0,28	-0,09	0,14	0,40	0,36	0,48
D40H	-0,14	-0,08	0,09	-0,01	-0,03	0,02	-0,13	-0,22	-0,11	-0,01	-0,19	-0,51	-0,19	-0,27	-0,10	0,12	0,36	0,33	0,51
D40I	-0,36	-0,12	-0,05	-0,21	-0,24	-0,37	-0,04	-0,06	0,27	-0,66	-0,94	-0,73	-0,21	-0,28	-0,50	0,00	0,00	0,00	0,08
D40K	0,10	-0,21	0,07	0,02	0,03	0,07	0,14	0,10	0,13	0,00	0,00	-0,53	-0,71	-0,20	-0,09	0,26	0,52	0,48	0,99
D40L	-0,35	-0,48	-0,13	-0,18	-0,18	-0,14	-0,19	-0,19	-0,05	-0,39	-0,59	-0,89	-0,42	-0,50	-0,12	0,03	0,09	0,11	0,22
D40M	-0,06	-0,10	-0,10	-0,10	-0,08	-0,03	0,00	0,02	0,22	-0,09	-0,31	-0,93	0,19	-0,29	-0,26	0,06	0,21	0,20	0,28
D40N	-0,09	-0,32	0,23	0,04	0,04	0,05	0,04	-0,07	0,00	0,01	-0,09	-0,28	-0,91	-0,25	0,03	0,31	0,51	0,47	1,10
D40P	0,07	-0,25	-0,04	-0,02	-0,01	0,01	0,01	-0,05	0,13	-0,07	-0,27	-0,53	0,06	-0,33	-0,12	0,13	0,38	0,35	0,47
D40Q	0,11	0,00	0,01	0,00	0,02	0,06	0,04	0,02	-0,01	0,11	-0,07	-0,61	-0,21	0,12	0,12	0,16	0,46	0,41	0,65
D40R	0,44	0,17	0,31	0,04	0,05	0,07	0,19	0,18	0,50	0,67	-0,03	-0,38	-0,14	-0,24	-0,07	0,20	0,46	0,40	0,63
D40S	0,04	-0,02	-0,04	0,03	0,06	0,06	0,08	-0,02	0,03	0,25	-0,13	-0,40	-0,23	0,06	0,02	0,19	0,46	0,44	0,63
D40T	-0,18	-0,13	-0,03	-0,10	-0,11	-0,06	-0,05	-0,13	0,15	-0,43	-0,40	-0,61	-0,07	-0,23	-0,08	0,05	0,15	0,14	0,32
D40V	-0,09	-0,29	-0,09	-0,15	-0,16	-0,13	-0,07	0,01	0,13	-0,68	-0,61	-0,89	-0,46	-0,77	-0,40	0,02	0,07	0,08	0,18
D40W	-0,04	-0,30	0,09	-0,17	-0,15	-0,11	-0,12	-0,02	0,02	-0,33	-0,57	-0,83	-0,40	-0,66	-0,25	0,03	0,10	0,10	0,22
D40Y	0,17	-0,36	-0,07	-0,18	-0,25	-0,30	0,35	0,11	0,10	0,34	0,11	0,21	-0,27	-0,59	-0,49	0,00	0,00	0,00	0,13
F41A	-0,30	-0,64	-0,02	-0,07	-0,05	-0,16	-0,14	-0,23	-0,23	-0,03	-0,21	-0,15	0,22	-0,15	-0,42	0,27	0,49	0,37	0,74
F41C	-0,40	-0,80	-0,07	-0,23	-0,19	-0,06	-0,30	-0,35	-0,29	-0,14	-0,14	-0,31	0,38	-0,58	-0,58	0,05	0,02	0,11	0,21
F41D	-0,62	-0,87	0,02	-0,22	-0,24	-0,15	-0,16	-0,27	-0,24	-0,25	-0,19	-0,46	0,04	-0,49	-0,48	0,03	0,02	0,07	0,15
F41E	-0,53	-0,88	-0,02	-0,31	-0,25	-0,04	-0,30	-0,37	-0,41	-0,59	-0,58	-0,72	-0,08	-0,48	-0,54	0,01	0,02	0,07	0,17
F41G	-0,29	-0,52	0,03	-0,04	-0,08	-0,10	-0,06	-0,08	0,03	0,54	0,02	0,02	0,38	-0,32	-0,48	0,18	0,38	0,17	0,60
F41H	-0,60	-0,92	-0,08	-0,19	-0,16	-0,15	-0,41	-0,47	-0,41	-0,22	-0,29	-0,31	0,74	-0,30	-0,45	0,11	0,30	0,34	0,36
F41I	-0,41	-1,02	-0,09	-0,10	-0,11	-0,11	-0,29	-0,40	-0,35	0,04	-0,07	-0,20	-0,03	-0,49	-0,54	0,14	0,38	0,36	0,65
F41K	-0,40	-0,67	0,10	-0,26	-0,28	-0,23	-0,29	-0,38	-0,25	0,16	-0,24	-0,34	0,06	-0,45	-0,56	0,04	0,07	0,13	0,44
F41L	-0,05	-0,79	-0,08	-0,04	-0,04	-0,06	0,00	-0,11	-0,18	-0,03	-0,03	-0,07	0,61	-0,13	-0,39	0,15	0,16	0,38	0,39
F41M	0,20	-0,22	0,01	-0,01	-0,03	0,00	-0,11	-0,09	-0,02	0,34	0,35	0,14	0,47	-0,03	0,07	0,24	0,34	0,41	0,45
F41N	-0,35	-0,79	-0,05	-0,19	-0,20	-0,19	-0,23	-0,30	-0,31	-0,23	-0,28	-0,42	0,63	-0,30	-0,45	0,10	0,30	0,39	0,38
F41P	-0,56	-1,15	-0,11	-0,27	-0,28	-0,20	-0,24	-0,31	-0,22	-0,26	-0,35	-0,36	0,42	-0,48	-0,52	0,11	0,36	0,40	0,43
F41Q	-0,41	-0,64	0,07	-0,18	-0,17	-0,19	-0,18	-0,30	-0,32	-0,09	-0,33	-0,37	0,27	-0,21	-0,45	0,13	0,33	0,37	0,69
F41R	0,17	-0,36	0,08	-0,18	-0,15	-0,14	-0,16	-0,20	-0,11	1,19	0,18	0,17	0,50	-0,26	-0,40	0,11	0,16	0,25	0,35
F41S	-0,02	-0,30	0,01	-0,02	-0,03	-0,03	-0,01	-0,08	0,01	0,51	0,22	0,12	-0,09	-0,35	-0,55	0,01	0,07	0,12	0,55
F41T	-0,40	-1,05	-0,10	-0,17	-0,19	-0,15	-0,05	-0,24	-0,08	-0,24	-0,30	-0,50	0,66	-0,33	-0,54	0,13	0,17	0,35	0,30
F41V	-1,16	-0,20	-0,05	-0,26	-0,31	-0,21	-0,46	-0,41	-0,71	-0,40	-0,46	-0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38
F41W	-0,50	-0,76	-0,01	-0,15	-0,13	-0,10	-0,25	-0,37	-0,33	0,02	-0,04	0,09	0,16	-0,57	-0,51	-0,02	-0,02	0,07	0,42
F41Y	-0,38	-0,90	-0,09	-0,11	-0,12	-0,07	-0,05	-0,24	-0,25	-0,09	0,08	-0,33	0,12	-0,28	-0,42	0,08	0,16	0,22	0,33
W42A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
W42C	-0,33	0,00	0,32	0,12	0,16	0,20	0,19	-0,06	-0,05	-0,12	-0,11	0,00	-0,12	-0,23	-0,25	0,71	0,24	0,08	1,55
W42D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
W42E	0,01	-0,35	-0,07	-0,19	-0,11	-0,11	0,07	0,01	-0,15	-0,57	-0,60	-0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13
W42F	-0,37	0,00	0,10	0,13	0,15	0,14	0,19	0,00	-0,02	-0,06	0,00	0,00	-0,15	-0,39	-0,50	-0,04	-0,05	-0,10	1,45
W42G	-0,25	-0,83	0,01	0,02	0,03	0,05	0,08	-0,11	-0,07	-0,16	-0,16	-0,27	-0,13	-0,19	-0,31	0,61	0,00	0,00	1,30
W42H	-0,30	0,00	0,10	0,08	0,08	0,15	0,03	-0,12	-0,03	-0,16	-0,11	0,00	-0,03	0,00	-0,32	0,48	0,51	0,16	1,59
W42I	-0,13	0,00	0,07	0,05	0,05	0,10	0,04	-0,13	0,00	-0,12	-0,05	0,00	-0,15	-0,26	-0,09	0,78	0,11	0,07	1,54
W42K	-0,12	-0,31	0,05	0,04	0,03	0,07	0,11	-0,04	-0,01	0,09	0,03	-0,01	-0,13	-0,24	-0,13	0,71	0,05	0,05	1,22
W42L	-0,24	-0,22	0,09	0,05	0,07	0,08	0,08	-0,04	-0,02	-0,08	-0,09	-0,21	-0,15	-0,34	-0,13	0,75	0,00	0,07	1,36
W42M	-0,32	0,00	0,03	0,05	0,05	0,09	0,05	-0,04	-0,02	-0,08	0,00	0,00	-0,13	-0,30	-0,16	0,83	0,02	0,05	1,46
W42N	0,00	0,00	-0,03	0,06	0,06	0,10	0,10	-0,02	-0,02	-0,14	0,00	0,00	-0,02	-0,26	-0,31	0,81	0,02	0,03	1,45
W42P	0,00	0,00	0,23	0,05	0,11	0,11	0,08	-0,04	-0,04	-0,12	0,00	-0,32	0,00	-0,24	-0,29	0,39	-0,03	0,02	1,56
W42Q	0,41	-0,20	-0,08	-0,17	-0,14	-0,09	0,14	0,09	-0,26	0,34	-0,17	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22
W42R	-0,18	-0,24	-0,05	0,01	0,01	0,05	0,09	-0,03	-0,06	-0,05	-0,03	0,04	-0,14	-0,26	-0,32	0,79	-0,03	0,03	1,38
W42S	-0,29	0,00	0,11	0,06	0,09	0,09	0,19	-0,04	-0,01	-0,09	-0,14	-0,23	-0,14	-0,36	-0,41	0,53	0,06	0,06	1,52
W42T	-0,35	0,05	0,04	0,04	0,06	0,09	0,11	-0,03	-0,03	-0,14	-0,12	-0,33	-0,11	-0,17	-0,30	0,64	0,21	0,09	1,27
W42V	-0,48	-1,10	0,16	0,09	0,14	0,15	0,20	-0,02	-0,44	-0,18	-0,41	-0,60	-0,10	-0,32	-0,46	0,27	-0,02	-0,03	1,28
W42Y	-0,15	0,00	0,03	-0,03	0,00	0,02	-0,05	-0,11	-0,03	-0,11	-0,13	-0,16	-0,15	-0,39	-0,50	-0,04	-0,05	-0,10	1,30
D43A	0,49	0,21	-0,06	0,03	0,02	0,04	0,11	0,04	0,03	0,69	0,40	0,24	-0,13	0,19	0,14	0,12	0,31	0,27	0,49
D43C	0,25	0,29	-0,01	0,20	0,25	0,37	0,39	0,33	0,26	0,96	0,56	0,57	-0,43	0,12	0,11	0,16	0,35	0,25	0,70

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
D43E	0,15	-0,17	-0,08	0,03	0,03	0,12	0,11	0,11	0,04	0,07	0,06	-0,01	-0,13	-0,06	-0,04	0,16	0,43	0,31	0,62
D43F	-0,21	-0,17	-0,03	0,02	0,01	0,06	0,08	0,05	-0,10	1,05	0,66	0,68	-0,38	-0,10	0,03	0,06	0,13	0,14	0,39
D43G	0,27	0,06	-0,05	0,04	0,05	0,08	0,16	0,10	-0,03	0,24	0,27	0,16	-0,20	0,15	0,03	0,11	0,27	0,24	0,53
D43H	0,26	0,04	-0,08	-0,01	0,01	0,05	0,06	0,04	-0,06	0,28	0,15	0,06	-0,04	0,01	0,10	0,09	0,27	0,23	0,49
D43I	-0,08	-0,03	-0,05	0,02	0,02	0,09	0,00	-0,06	-0,04	1,08	0,26	0,20	0,01	0,00	0,10	0,06	0,17	0,15	0,32
D43K	0,43	0,36	0,00	0,02	0,05	0,07	0,31	0,27	0,17	0,93	0,70	0,51	-0,25	0,13	0,12	0,15	0,40	0,33	0,65
D43L	0,11	-0,04	-0,04	0,00	0,01	0,07	0,02	-0,04	-0,08	0,48	0,63	0,34	-0,11	-0,15	-0,03	0,06	0,17	0,14	0,37
D43M	-0,17	-0,05	-0,05	-0,07	-0,02	0,04	0,02	-0,05	0,00	0,50	0,31	0,13	-0,08	-0,09	-0,02	0,06	0,15	0,15	0,31
D43N	0,22	0,15	-0,05	0,03	0,03	0,09	0,15	0,15	0,07	0,61	0,45	0,29	-0,55	0,17	0,13	0,20	0,45	0,38	0,71
D43P	0,56	0,28	-0,08	-0,10	-0,07	-0,02	0,05	0,02	0,06	0,30	0,10	0,02	-0,40	-0,06	0,03	0,04	0,10	0,10	0,34
D43Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
D43R	-0,17	0,07	-0,03	-0,08	-0,08	0,02	0,20	0,09	0,00	1,26	1,02	0,76	-0,32	-0,08	-0,01	0,06	0,16	0,14	0,38
D43S	0,11	0,15	-0,05	-0,06	-0,04	0,01	0,12	0,07	0,10	-0,01	0,22	-0,06	-0,26	0,08	0,14	0,10	0,31	0,26	0,43
D43T	0,22	-0,20	-0,05	-0,12	-0,09	-0,02	-0,04	-0,09	-0,15	0,23	0,06	0,00	-0,12	-0,14	-0,02	0,07	0,18	0,16	0,41
D43V	-0,01	-0,06	-0,08	-0,06	-0,06	0,01	-0,05	-0,12	-0,09	0,39	0,18	0,09	-0,10	-0,24	0,01	0,06	0,19	0,18	0,37
D43W	-0,12	-0,20	-0,07	0,00	0,01	0,09	0,17	0,00	-0,02	1,88	1,10	1,49	-0,10	0,05	0,16	0,06	0,16	0,12	0,39
D43Y	0,00	-0,03	-0,11	-0,02	0,00	0,06	0,01	0,02	-0,01	1,15	0,57	0,41	0,06	0,06	0,08	0,06	0,19	0,16	0,35
K44A	-0,47	-0,51	-0,04	0,10	0,03	0,10	-0,02	-0,02	-0,13	-0,24	-0,14	-0,12	0,19	-0,10	-0,22	0,05	0,11	0,12	0,21
K44C	-0,32	-0,27	0,00	0,38	0,64	0,87	0,09	0,12	-0,04	0,64	0,87	0,73	0,00	-0,23	-0,28	0,04	0,08	0,08	0,18
K44D	-1,33	-0,44	-0,11	-0,05	0,07	0,21	-0,12	-0,37	-0,43	-1,27	-0,99	-0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
K44E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
K44F	0,08	-0,33	-0,05	0,24	0,38	0,82	0,06	0,01	-0,15	1,34	1,36	1,69	-0,37	-0,26	-0,14	0,06	0,10	0,09	0,27
K44G	-0,22	-0,40	-0,02	0,08	0,14	0,12	0,01	-0,05	-0,17	-0,10	-0,08	-0,08	0,18	-0,05	-0,19	0,07	0,16	0,13	0,24
K44H	-0,45	-0,50	-0,04	0,04	0,06	0,07	-0,13	-0,08	0,02	-0,32	-0,29	-0,18	-0,03	-0,06	-0,13	0,04	0,09	0,08	0,17
K44I	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,19
K44L	-0,12	-0,25	-0,04	0,13	0,18	0,34	0,03	0,00	-0,11	0,33	0,44	0,50	0,06	0,13	-0,01	0,06	0,13	0,12	0,23
K44M	-0,38	-0,49	-0,02	0,07	0,11	0,21	0,00	-0,01	-0,13	0,14	0,13	0,26	0,01	0,02	0,00	0,06	0,12	0,12	0,21
K44N	-0,36	-0,35	-0,02	0,07	0,09	0,10	0,07	0,04	-0,10	-0,29	-0,23	-0,22	0,15	-0,06	-0,21	0,09	0,16	0,16	0,26
K44P	-0,42	-0,45	-0,03	0,11	0,14	0,17	0,08	0,01	-0,13	0,04	0,24	0,22	0,05	-0,05	-0,07	0,06	0,13	0,11	0,23
K44Q	-0,39	-0,60	-0,02	0,22	0,14	0,18	0,03	-0,08	-0,20	0,06	-0,18	0,04	0,48	0,17	-0,07	0,05	0,13	0,11	0,17
K44R	0,19	-0,17	-0,06	0,02	0,00	0,03	0,00	-0,12	-0,19	0,01	0,03	-0,19	-0,13	0,21	0,00	0,04	0,12	0,11	0,26
K44S	-0,16	-0,21	-0,04	0,11	0,17	0,17	0,06	0,03	-0,08	0,13	0,24	0,12	0,38	0,21	-0,19	0,07	0,17	0,16	0,25
K44T	-0,49	-0,51	-0,04	0,06	0,11	0,10	0,02	-0,04	-0,23	-0,21	-0,17	-0,12	0,09	-0,05	-0,21	0,07	0,14	0,14	0,24
K44V	0,01	-0,09	-0,01	0,13	0,22	0,33	0,09	0,20	0,05	0,31	0,43	0,60	0,18	0,07	-0,01	0,06	0,16	0,13	0,22
K44W	0,18	-0,06	0,00	0,65	1,04	1,87	0,08	0,03	-0,04	2,10	2,26	2,58	-0,59	-0,28	-0,17	0,03	0,06	0,06	0,22
K44Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
T45A	0,30	0,17	-0,05	0,05	0,05	0,07	0,05	-0,03	0,03	-0,16	0,02	-0,06	0,12	0,43	0,15	0,17	0,44	0,36	0,49
T45C	0,32	0,48	0,11	0,22	0,39	0,51	0,26	0,11	0,25	0,46	0,54	0,56	0,00	0,08	0,12	0,14	0,19	0,18	0,39
T45D	-0,49	-0,46	-0,06	0,14	0,10	0,10	0,05	-0,03	0,14	-0,59	-0,51	-0,32	0,50	-0,25	-0,13	0,10	0,22	0,19	0,29
T45E	-0,53	-0,53	-0,07	0,01	-0,01	0,01	-0,01	-0,10	0,07	-0,44	-0,37	-0,31	0,44	-0,09	-0,16	0,07	0,20	0,16	0,28
T45F	0,46	0,44	-0,01	0,10	0,10	0,15	0,09	0,07	0,11	1,83	1,89	2,27	0,46	0,63	0,57	0,09	0,18	0,16	0,28
T45G	0,21	-0,02	-0,03	0,03	0,02	0,04	0,03	0,00	0,04	-0,29	-0,08	-0,10	0,00	0,36	0,11	0,14	0,38	0,31	0,47
T45H	0,19	0,20	-0,01	0,06	0,05	0,09	0,14	0,13	0,08	-0,07	0,01	0,07	0,12	0,44	0,41	0,13	0,32	0,30	0,40
T45I	0,17	0,16	-0,03	0,14	-0,03	0,06	0,43	0,63	0,48	-0,02	0,02	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
T45K	0,84	0,44	0,01	0,00	0,04	0,06	0,09	-0,04	0,04	0,06	-0,02	-0,18	0,47	0,65	0,28	0,10	0,27	0,26	0,36
T45L	0,37	0,65	0,01	0,03	0,03	0,06	0,06	0,03	0,12	0,71	0,74	1,02	0,32	0,20	0,26	0,09	0,23	0,22	0,34
T45M	0,64	0,72	0,01	0,15	0,05	0,09	0,41	0,01	0,29	0,83	0,85	0,57	0,15	0,64	0,34	0,15	0,35	0,32	0,42
T45N	-0,28	-0,21	-0,03	0,00	0,01	0,03	0,01	0,03	-0,08	-0,57	-0,37	-0,34	0,36	0,19	0,11	0,14	0,38	0,29	0,43
T45P	0,39	0,16	-0,03	0,06	0,06	0,09	0,04	-0,02	-0,01	-0,09	-0,17	0,05	0,50	0,06	-0,13	0,10	0,25	0,21	0,33
T45Q	0,04	-0,13	-0,05	0,01	0,01	0,05	0,05	0,03	0,00	-0,64	-0,36	-0,34	0,60	0,37	0,11	0,10	0,32	0,26	0,37
T45R	0,78	0,66	-0,01	0,04	0,03	0,07	0,12	0,10	0,07	0,18	0,29	0,30	0,05	0,37	0,23	0,11	0,29	0,25	0,42
T45S	0,21	0,07	-0,04	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	-0,06	0,09	0,02	0,25	0,15	0,07	0,13	0,32	0,29	0,45
T45V	0,38	0,41	-0,02	0,05	0,04	0,09	-0,09	0,10	0,02	0,34	0,54	0,73	0,47	0,20	0,06	0,10	0,24	0,23	0,30
T45W	0,39	0,39	0,07	0,07	0,06	0,21	0,07	0,10	0,19	1,92	1,90	1,91	0,22	0,27	0,27	0,05	0,14	0,13	0,27
T45Y	0,06	0,24	-0,02	0,08	0,07	0,12	-0,02	-0,02	0,06	0,48	0,32	0,67	0,22	0,46	0,33	0,13	0,31	0,30	0,35
G46A	-0,23	-0,62	-0,06	0,00	-0,05	-0,03	-0,05	-0,09	-0,01	-0,34	-0,10	-0,20	0,10	-0,50	-0,26	0,04	0,12	0,12	0,19
G46C	-0,39	-0,39	0,01	0,13	0,25	0,38	-0,04	-0,20	-0,14	0,59	0,67	0,82	-0,07	-0,23	-0,20	0,09	0,12	0,11	0,31
G46D	-0,11	-0,58	-0,06	0,16	0,20	0,30	-0,01	-0,01	0,01	0,46	0,44	0,43	-0,36	-0,57	-0,25	0,17	0,33	0,25	0,55
G46E	0,21	-0,28	-0,02	0,35	0,30	0,42	0,16	0,16	0,03	0,76	0,83	1,05	-0,48	-0,56	-0,22	0,27	0,36	0,31	0,63
G46F	0,38	-0,25	-0,05	-0,11	-0,07	-0,03	-0,03	-0,09	-0,09	1,15	1,37	1,22	-0,26	-0,45	-0,33	0,05	0,09	0,08	0,25
G46H	0,05	-0,24	-0,04	0,04	0,09	0,10	-0,03	-0,08	-0,03	0,39	0,52	0,56	-0,13	-0,50	-0,24	0,06	0,11	0,08	0,21
G46I	0,91	-0,37	-0,09	-0,03	-0,01	-0,03	0,14	0,11	0,27	0,12	0,47	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
G46K	0,74	-0,20	-0,05	0,03	0,08	0,13	-0,19	-0,16	-0,16	1,20	1,61	1,49	-0,14	-0,42	-0,11	0,05	0,10	0,07	0,24
G46L	-0,04	-0,45	-0,06	-0,04	0,00	0,06	-0,27	-0,29	-0,27	0,57	0,53	0,75	-0,29	-0,52	-0,39	0,05	0,07	0,06	0,23
G46M	-0,49	-0,73	-0,10	-0,17	-0,12	-0,12	-0,10	-0,13	-0,24	-0,48	-0,11	-0,41	-0,34	-0,29	-0,16	0,02	0,06	0,06	0,16
G46N	0,14	-0,45	-0,04	-0,02	-0,02	0,06	-0,18	0,12	-0,02	0,54	0,74	0,53	0,32	-0,11	-0,16	0,14	0,20	0,23	0,33
G46P	0,73	0,15	0,04	0,15	0,18	0,19	-0,04	0,02	-0,06	1,09	1,03	0,86	-0,07	-0,19	-0,18	0,12	0,26	0,22	0,44
G46Q	0,07	-0,62	-0,05	0,11	0,12	0,14	0,00	-0,03	-0,09	0,12	0,11	0,19	0,16	-0,25	-0,15	0,07	0,18	0,15	0,27
G46R	0,79	-0,02	0,04	0,12	0,18	0,19	0,16	0,09	0,07	1,58	1,57	1,66	-0,11	-0,09	0,06	0,05	0,07	0,08	0,24
G46S	-0,20	-0,64	-0,06	-0,06	-0,04	-0,04	-0,04	-0,03	-0,08	-0,20	-0,19	-0,15	-0,03	-0,31	-0,13	0,05	0,13	0,13	0,24
G46T	0,19	-0,48	-0,05	0,10	0,14	0,16	-0,13	-0,18	-0,21	0,66	0,82	1,01	-0,10	-0,58	-0,34	0,08	0,16	0,14	0,28
G46V	0,50	-0,17	-0,04	-0,01	0,00	0,06	-0,08	-0,13	-0,18	0,45	0,70	0,63	-0,33	-0,56	-0,29	0,07	0,17	0,14	0,37
G46W	0,79	0,13	-0,04	-0,06	-0,01	0,16	0,03	-0,02	0,12	2,32	2,41	2,59	-0,19	-0,37	-0,26	0,04	0,09	0,09	0,23
G46Y	0,06	-0,45	-0,05	-0,06	-0,05	0,02	-0,08	-0,01	-0,15	0,63	0,79	0,97	-0,45	-0,35	-0,03	0,06	0,06	0,05	0,24
T47A	0,95	-0,19	-0,06	-0,05	-0,04	-0,23	0,00	0,03	0,30	0,80	0,53	0,03	0,02	-0,19	-0,35	0,00	0,00	0,00	0,10
T47C	0,05	-0,21	0,04	0,15	0,20	0,23	-0,04	-0,01	-0,05	0,15	0,16	0,23	-0,27	-0,41	-0,28	0,05	0,10	0,08	0,20
T47D	-0,26	-0,41	-0,09	-0,06	0,04	0,06	0,12	0,16	0,17	-0,10	-0,24	-0,09	-0,01	-0,58	-0,43	0,26	0,55	0,46	0,46
T47E	0,17	-0,23	0,00	0,18	0,20	0,16	0,17	0,18	0,21	0,12	-0,02	0,05	0,29	-0,21	-0,19	0,17	0,48	0,40	0,34
T47F	0,34	0,58	0,03	0,16	0,18	0,23	0,17	0,11	0,06	1,88	1,81	1,80	-0,02	0,53	0,46	0,11	0,28	0,23	0,35
T47G	0,08	0,09	0,01	0,04	0,08	0,04	-0,01	-0,03	0,03	0,46	0,33	0,32	0,26	0,08	0,03	0,08	0,15	0,08	0,26
T47H	0,41	1,29	0,15	0,22	0,23	0,22	0,17	0,25	0,21	0,62	0,55	0,43	-0,37	0,84	1,08	0,23	0,50	0,41	0,35
T47I	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T47K	0,29	1,04	0,15	0,13	0,16	0,14	0,17	0,21	0,15	0,14	0,07	0,09	-0,47	0,18	0,18	0,09	0,26	0,21	0,34
T47L	-0,03	0,09	0,00	0,03	0,06	0,03	-0,05	-0,08	-0,07	0,49	0,27	0,17	0,27	0,22	0,12	0,05	0,13	0,11	0,21
T47M	0,15	0,48	0,06	0,06	0,09	0,11	0,02	0,08	-0,02	0,69	0,56	0,55	0,18	0,45	0,18	0,13	0,34	0,27	0,32
T47N	0,14	0,34	0,00	0,08	0,11	0,11	-0,03	0,07	0,01	0,32	0,24	0,07	0,78	0,54	0,29	0,10	0,23	0,17	0,27
T47P	0,40	0,05	0,00	0,18	0,22	0,20	0,06	0,09	-0,18	0,85	0,76	0,78	-0,08	0,09	-0,06	0,15	0,47	0,38	0,35
T47Q	0,71	-0,29	-0,06	0,01	-0,04	-0,23	0,11	0,08	0,57	0,19	-0,29	-0,39	0,10	-0,34	-0,44	0,00	0,00	0,00	0,09
T47R	0,56	1,25	0,22	0,14	0,18	0,16	0,13	0,17	0,11	0,82	0,38	0,40	0,26	0,57	0,56	0,14	0,38	0,29	0,36
T47S	-0,03	-0,12	0,00	-0,01	0,02	-0,02	-0,01	-0,05	-0,01	-0,05	-0,12	-0,07	0,13	0,13	0,07	0,04	0,13	0,10	0,19
T47V	0,08	0,07	0,01	0,03	0,08	0,07	-0,04	-0,05	0,01	0,55	0,12	0,16	1,79	0,89	0,48	0,11	0,34	0,25	0,18
T47W	0,28	0,50	0,07	0,13	0,14	0,23	0,07	0,02	-0,03	1,62	1,40	1,45	0,21	0,49	0,37	0,09	0,23	0,19	0,34
T47Y	0,47	0,77	0,03	0,21	0,25	0,23	0,16	0,18	0,06	1,46	1,16	1,20	0,40	0,80	0,27	0,14	0,35	0,29	0,32
N48A	-0,21	-0,86	-0,08	-0,06	-0,05	-0,03	-0,02	-0,06	-0,19	0,06	-0,03	0,03	-0,02	-0,74	-0,27	0,12	0,37	0,29	0,43
N48C	-0,33	-0,43	-0,03	0,08	0,16	0,28	0,09	0,03	0,04	0,15	0,14	0,20	-0,18	-0,44	-0,16	0,12	0,32	0,26	0,46
N48D	-0,60	-0,98	-0,07	0,01	-0,05	-0,09	-0,04	-0,01	-0,06	-0,05	0,08	-0,06	-0,17	-0,77	-0,25	0,16	0,45	0,34	0,40
N48E	-0,49	-0,46	-0,02	-0,04	-0,01	0,07	-0,08	-0,23	-0,22	-0,02	-0,13	-0,04	-1,04	-0,73	-0,22	0,37	0,47	0,52	1,20
N48F	-0,66	-0,84	-0,06	0,02	-0,09	0,06	-0,06	-0,15	-0,21	0,43	0,84	0,77	-0,01	-0,79	-0,31	0,04	0,10	0,13	0,25
N48G	-0,19	-0,66	-0,06	-0,05	-0,04	-0,02	-0,04	-0,03	-0,13	0,13	0,14	0,15	-0,18	-0,58	-0,17	0,15	0,39	0,29	0,58
N48H	-0,55	-1,00	-0,07	-0,10	-0,14	-0,10	-0,20	-0,21	-0,26	-0,23	-0,04	-0,29	-0,36	-0,75	-0,22	0,05	0,17	0,13	0,39

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
N48I	-0,56	-0,91	-0,09	-0,13	-0,04	0,01	-0,38	-0,21	-0,24	-0,01	0,06	0,53	-0,22	-0,61	-0,14	0,05	0,14	0,13	0,26
N48K	-0,48	-0,83	-0,07	-0,16	-0,12	-0,10	-0,09	-0,25	-0,29	0,48	0,26	0,31	-0,29	-0,69	-0,19	0,07	0,21	0,17	0,41
N48L	-0,58	-0,97	-0,08	-0,13	-0,10	-0,05	-0,29	-0,28	-0,26	0,39	0,56	0,88	-0,32	-0,62	-0,14	0,04	0,14	0,10	0,28
N48M	-0,31	-0,78	-0,05	-0,10	-0,05	0,01	-0,11	-0,11	-0,24	0,08	0,38	0,60	-0,07	-0,70	-0,23	0,07	0,23	0,18	0,39
N48P	-0,14	-0,79	-0,07	-0,09	-0,05	-0,02	0,04	-0,11	-0,19	0,07	-0,03	-0,02	-0,20	-0,70	-0,21	0,10	0,32	0,25	0,51
N48Q	0,03	-0,66	-0,06	-0,08	-0,09	-0,03	0,09	-0,06	-0,15	-0,18	-0,06	-0,11	0,28	-0,36	-0,13	0,08	0,26	0,23	0,37
N48R	-0,30	-0,60	-0,06	-0,08	-0,04	0,00	-0,02	-0,11	-0,27	0,43	0,74	0,76	-0,49	-0,50	-0,14	0,16	0,59	0,45	0,75
N48S	0,06	-0,44	-0,06	-0,01	-0,03	0,01	0,01	-0,01	-0,06	-0,16	0,16	0,14	0,02	-0,52	-0,21	0,09	0,32	0,27	0,43
N48T	-0,11	-0,73	-0,09	-0,03	-0,05	0,05	-0,03	-0,09	-0,20	1,10	1,04	1,21	-0,06	-0,66	-0,18	0,09	0,30	0,24	0,44
N48V	-0,61	-0,95	-0,09	-0,13	-0,08	-0,09	-0,14	-0,23	-0,22	0,05	-0,10	0,08	-0,47	-0,67	-0,15	0,05	0,14	0,14	0,30
N48W	-0,34	-0,51	-0,06	0,04	0,07	0,22	-0,08	-0,14	-0,24	0,71	0,63	0,70	-0,46	-0,75	-0,28	0,14	0,39	0,31	0,58
N48Y	-0,34	-0,65	-0,05	-0,05	0,00	0,07	-0,10	-0,13	-0,13	0,57	0,59	0,81	-0,17	-0,85	-0,40	0,11	0,38	0,27	0,42
Y49A	0,34	0,33	0,01	0,04	0,06	0,12	0,08	0,22	0,22	0,15	0,08	0,10	-0,25	-0,67	-0,49	0,48	0,61	0,29	0,45
Y49C	0,14	0,24	0,07	0,20	0,32	0,43	0,24	0,27	0,23	0,33	0,11	0,33	0,75	-0,84	-1,06	0,26	0,43	0,54	0,52
Y49D	-0,20	-0,27	0,02	0,14	0,13	0,16	0,23	0,17	0,20	-0,38	-0,46	-0,27	-0,26	-0,93	-1,13	0,55	0,32	0,20	0,93
Y49E	-0,39	-0,11	-0,01	0,05	0,05	0,09	0,25	0,22	0,28	-0,24	-0,36	-0,28	-0,46	-1,12	-1,13	0,49	0,19	0,18	0,58
Y49F	-0,08	0,27	0,05	0,04	0,05	0,05	0,04	0,11	0,09	-0,03	0,02	0,02	0,13	-0,94	-1,20	0,09	0,18	0,23	0,46
Y49G	0,21	0,02	0,00	0,04	0,04	0,06	0,10	0,30	0,16	0,09	0,08	-0,06	-0,14	-0,78	-0,56	0,52	0,44	0,00	0,43
Y49H	0,31	0,55	0,10	0,08	0,08	0,12	0,08	0,12	0,13	0,25	0,19	0,26	-0,30	-0,61	-0,22	0,50	0,50	0,28	0,48
Y49I	0,15	0,28	0,01	0,00	0,03	0,05	0,08	0,11	0,09	-0,15	-0,20	-0,10	0,02	-0,54	-0,53	0,43	0,48	0,34	0,43
Y49K	0,54	0,85	0,07	0,02	0,03	0,07	0,23	0,25	0,16	0,89	0,86	0,54	0,06	-0,85	-1,08	0,10	0,20	0,22	0,44
Y49L	0,13	-0,02	0,02	0,06	0,04	0,06	0,00	0,10	0,07	-0,06	0,03	-0,13	0,86	-0,37	-0,69	0,28	0,45	0,46	0,35
Y49M	0,28	0,06	-0,01	0,01	0,03	0,06	0,09	0,11	0,08	0,32	0,15	0,07	0,51	-0,45	-0,57	0,33	0,42	0,33	0,34
Y49N	0,18	0,21	-0,01	0,04	0,04	0,13	0,10	0,16	0,23	-0,07	-0,09	-0,13	-0,40	-0,52	-0,23	0,48	0,54	0,22	0,46
Y49P	0,12	-0,01	-0,01	0,03	0,03	0,05	0,04	0,14	0,08	-0,15	-0,18	-0,22	0,09	-0,67	-1,00	0,30	0,59	0,27	0,43
Y49Q	0,16	0,16	0,01	0,02	0,03	0,09	0,03	0,16	0,15	-0,07	-0,08	-0,08	-0,11	-1,04	-0,90	0,70	0,16	0,14	0,43
Y49R	0,33	0,94	0,14	0,08	0,10	0,14	0,19	0,29	0,21	1,50	0,89	1,03	-0,41	-0,94	-0,44	0,56	0,40	0,24	0,66
Y49S	0,18	0,27	-0,01	0,05	0,07	0,08	0,10	0,20	0,14	0,04	-0,01	-0,06	-0,38	-0,82	-0,53	0,56	0,30	0,20	0,48
Y49T	-0,18	0,11	0,22	0,02	0,02	0,02	0,05	0,11	0,15	-0,40	-0,52	-0,35	-0,28	-1,03	-0,86	0,54	0,36	0,16	0,76
Y49V	0,11	0,05	0,00	0,02	0,01	0,03	0,08	0,05	0,10	0,03	0,03	0,00	0,16	-0,44	-0,66	0,29	0,53	0,40	0,38
Y49W	0,04	0,04	-0,01	0,06	0,02	0,04	0,02	0,07	0,04	1,02	1,03	1,03	-0,35	-0,54	-0,32	0,41	0,52	0,29	0,35
N50A	0,08	0,15	0,02	0,09	0,09	0,10	0,02	0,03	-0,05	0,41	0,51	0,25	0,44	0,45	0,14	0,06	0,17	0,15	0,36
N50C	0,18	0,18	0,08	0,29	0,39	0,49	0,05	0,10	-0,05	0,78	0,78	0,75	0,35	0,44	0,16	0,09	0,31	0,23	0,46
N50D	0,21	0,19	-0,02	0,13	0,17	0,18	0,03	0,11	-0,09	0,32	0,26	0,38	0,41	0,28	-0,16	0,11	0,40	0,28	0,43
N50E	0,16	0,32	0,02	0,19	0,21	0,22	0,10	0,14	-0,05	0,19	0,19	0,36	0,09	0,41	0,20	0,19	0,47	0,36	0,52
N50F	0,11	-0,19	0,08	0,08	0,06	0,14	-0,05	-0,08	-0,13	0,67	1,04	0,65	-0,02	0,10	0,14	0,03	0,08	0,07	0,25
N50G	0,20	0,04	-0,03	0,17	0,16	0,17	0,09	0,09	0,03	0,69	0,62	0,52	0,78	0,38	0,13	0,07	0,18	0,14	0,31
N50H	0,08	0,06	0,03	0,05	0,04	0,03	0,04	0,03	0,06	-0,01	0,04	0,00	0,10	0,09	0,04	0,03	0,09	0,07	0,23
N50I	-0,42	-0,02	-0,04	0,08	0,00	0,01	0,02	0,05	-0,40	0,54	0,84	0,79	0,00	0,00	0,00	0,08	0,19	0,16	0,32
N50K	0,27	0,76	0,08	0,23	0,20	0,21	0,08	0,18	0,11	0,73	0,75	0,49	0,65	0,61	0,44	0,09	0,33	0,26	0,45
N50L	0,16	0,28	0,01	0,20	0,17	0,17	0,07	0,08	0,07	1,57	1,40	1,14	0,42	0,36	0,18	0,06	0,16	0,14	0,32
N50M	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
N50P	0,19	-0,25	-0,06	0,07	0,11	0,13	0,15	0,06	-0,09	0,55	0,40	0,43	0,56	-0,11	-0,03	0,06	0,17	0,16	0,27
N50Q	0,11	0,21	-0,01	0,09	0,07	0,09	0,03	0,13	0,12	0,26	0,18	0,14	0,63	0,39	0,17	0,05	0,16	0,14	0,29
N50R	0,16	0,44	0,06	0,25	0,23	0,22	0,27	0,17	0,04	0,71	0,80	0,57	0,75	0,71	0,34	0,08	0,21	0,19	0,39
N50S	-0,03	-0,11	-0,04	0,01	-0,01	0,01	0,01	0,06	0,03	-0,03	-0,03	-0,04	0,03	0,06	-0,03	0,03	0,07	0,06	0,25
N50T	0,09	0,16	0,00	0,09	0,06	0,08	0,04	0,08	-0,02	0,27	0,25	0,23	0,33	0,17	-0,05	0,05	0,12	0,11	0,29
N50V	0,09	0,06	0,02	0,08	0,08	0,06	0,16	0,03	-0,04	0,19	0,19	0,20	0,31	0,15	0,03	0,05	0,15	0,11	0,27
N50W	0,21	0,00	0,11	0,14	0,12	0,17	0,05	0,11	0,06	0,47	0,64	0,50	0,26	0,20	0,20	0,04	0,12	0,10	0,24
N50Y	0,02	0,09	0,03	0,08	0,07	0,08	-0,09	0,09	-0,06	0,46	0,54	0,48	0,28	0,23	0,07	0,04	0,12	0,10	0,29
N51A	-0,20	-0,12	0,25	-0,05	-0,04	-0,05	-0,02	-0,09	-0,13	0,01	0,14	0,05	-0,11	-0,36	-0,35	0,06	0,22	0,19	0,28
N51C	0,13	-0,12	-0,01	0,07	0,02	0,28	0,12	0,26	0,28	0,52	0,45	0,27	0,66	-0,15	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,15
N51D	-1,03	-0,46	-0,08	-0,18	-0,11	0,01	-0,24	-0,30	-0,41	-0,73	-0,86	-0,71	-0,06	-0,26	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,47
N51E	-1,04	-1,04	-0,08	-0,19	-0,14	0,01	-0,20	-0,09	-0,28	-0,34	-0,30	-0,37	0,07	-0,55	-0,29	0,07	0,28	0,24	0,34
N51F	-0,94	-1,05	-0,08	-0,08	-0,04	0,12	-0,12	-0,11	-0,02	0,88	0,86	0,85	-0,21	-0,80	-0,46	0,07	0,12	0,12	0,21
N51G	-0,36	-0,80	-0,07	0,04	0,02	0,07	-0,01	-0,08	-0,32	1,20	0,71	0,86	-0,51	-0,51	-0,29	0,14	0,45	0,00	0,51
N51H	-0,19	-0,72	-0,08	0,02	0,03	0,10	-0,03	-0,06	-0,20	0,85	1,79	0,98	-0,20	0,15	0,06	0,13	0,38	0,38	0,35
N51I	-0,14	0,45	0,13	0,47	0,55	0,55	0,51	0,44	0,24	1,71	2,10	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15
N51K	0,09	-0,40	-0,05	0,10	0,03	0,15	0,10	0,19	0,00	2,25	1,69	1,75	-0,19	-0,36	-0,06	0,08	0,16	0,17	0,35
N51L	-0,72	-0,98	-0,09	-0,09	-0,09	-0,08	-0,02	0,02	0,00	0,00	-0,20	-0,06	0,12	-0,54	-0,23	0,06	0,22	0,18	0,24
N51M	-0,63	-0,94	-0,09	-0,09	-0,05	0,00	-0,22	-0,08	-0,17	0,37	0,45	0,45	-0,12	-0,47	-0,23	0,05	0,26	0,21	0,29
N51P	-0,40	-0,93	-0,09	0,00	0,05	0,23	-0,10	0,01	-0,04	1,68	1,62	1,56	-0,13	-0,69	-0,30	0,08	0,16	0,15	0,26
N51Q	-0,32	-0,77	-0,07	0,08	0,09	0,12	0,19	0,19	-0,12	0,55	0,57	0,49	-0,49	-0,23	-0,12	0,17	0,47	0,42	0,50
N51R	0,52	0,70	0,26	0,19	0,17	0,23	0,36	0,51	0,39	0,63	0,52	0,57	-0,53	0,19	0,52	0,19	0,35	0,32	0,56
N51S	-0,15	-0,28	0,02	-0,06	-0,04	-0,04	-0,14	-0,05	-0,23	0,16	0,02	0,05	0,05	-0,39	-0,28	0,08	0,22	0,20	0,32
N51T	-0,26	-0,35	-0,01	-0,06	-0,05	-0,06	-0,10	0,04	0,14	-0,30	-0,18	-0,17	0,13	-0,40	-0,11	0,06	0,15	0,15	0,28
N51V	-0,18	0,01	0,08	-0,02	0,01	-0,01	0,05	0,09	0,03	-0,08	0,00	0,01	0,00	-0,28	-0,12	0,11	0,33	0,28	0,40
N51W	-0,96	-1,03	-0,09	-0,13	-0,11	-0,07	-0,21	-0,10	-0,20	-0,24	-0,07	-0,22	-0,72	-0,61	-0,29	0,02	0,03	0,03	0,11
N51Y	-0,56	-0,97	-0,07	-0,08	-0,02	0,14	-0,11	0,01	-0,07	1,25	1,16	1,28	-0,35	-0,70	-0,23	0,07	0,13	0,14	0,28
G52A	-0,05	-0,24	-0,02	-0,01	0,00	-0,01	-0,02	0,03	-0,05	0,13	0,01	0,17	0,22	-0,16	-0,06	0,10	0,27	0,21	0,39
G52C	-0,37	-0,26	-0,02	-0,04	0,00	0,04	-0,05	-0,06	-0,25	0,32	0,12	0,10	-0,11	-0,11	-0,13	0,00	0,00	0,00	0,23
G52D	-0,09	-0,08	0,00	-0,05	-0,03	-0,03	-0,09	-0,02	-0,07	-0,11	-0,07	0,12	-0,23	-0,15	-0,03	0,14	0,38	0,33	0,48
G52E	-0,56	-0,97	-0,05	-0,03	0,03	0,31	-0,14	-0,15	-0,24	1,32	0,98	0,94	-0,23	-0,76	-0,25	0,13	0,36	0,27	0,50
G52F	-0,30	0,05	0,08	-0,06	-0,01	0,00	0,16	0,05	-0,04	0,26	0,22	-0,07	-0,06	0,17	0,25	0,15	0,42	0,33	0,50
G52H	-0,77	-1,19	-0,07	-0,11	-0,10	-0,02	-0,27	-0,31	-0,36	0,80	0,72	0,68	-0,19	-0,59	-0,07	0,08	0,20	0,17	0,37
G52I	-0,35	-0,28	-0,03	-0,09	-0,07	-0,06	-0,07	-0,17	-0,20	-0,31	-0,26	-0,33	0,04	-0,34	-0,22	0,08	0,26	0,19	0,36
G52K	-0,59	-0,97	-0,07	-0,18	-0,18	-0,14	-0,41	-0,41	-0,36	0,99	0,58	0,18	-0,18	-0,79	-0,39	0,05	0,16	0,13	0,30
G52L	-0,61	-1,05	-0,04	-0,12	-0,12	-0,06	-0,17	-0,31	-0,30	-0,02	0,02	0,01	0,07	-0,60	-0,12	0,09	0,28	0,23	0,36
G52M	-0,74	-0,27	-0,03	-0,13	-0,16	-0,15	-0,12	-0,18	-0,18	-0,06	-0,15	-0,10	-0,21	-0,13	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,27
G52N	-1,16	-0,26	-0,04	-0,19	-0,27	-0,10	-0,48	-0,44	-0,64	-0,11	-0,02	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34
G52P	-0,13	-0,76	-0,06	-0,02	-0,01	0,02	0,00	-0,09	-0,18	0,36	0,62	0,79	0,14	-0,41	-0,11	0,09	0,31	0,26	0,35
G52Q	-0,54	-1,00	-0,07	-0,22	-0,21	-0,08	-0,23	-0,31	-0,39	0,26	0,21	0,14	-0,31	-0,69	-0,23	0,08	0,26	0,23	0,47
G52R	-0,31	-0,87	-0,06	-0,19	-0,15	-0,09	-0,35	-0,38	-0,34	1,14	0,94	0,64	-0,01	-0,70	-0,30	0,05	0,17	0,14	0,27
G52S	-0,11	-0,62	-0,02	-0,02	-0,03	-0,02	-0,05	-0,04	-0,13	0,20	-0,06	-0,08	0,09	-0,38	-0,12	0,10	0,29	0,24	0,36
G52T	-0,44	-0,96	-0,05	-0,07	-0,07	-0,06	-0,03	-0,09	-0,24	-0,18	-0,10	-0,16	0,00	-0,43	-0,05	0,07	0,24	0,20	0,30
G52V	-0,16	-1,02	-0,06	0,00	0,03	0,02	-0,05	-0,07	-0,24	0,35	0,23	0,27	0,35	-0,44	-0,17	0,08	0,25	0,22	0,31
G52W	-0,56	-0,99	-0,05	-0,20	-0,12	0,07	-0,36	-0,31	-0,24	0,28	0,32	0,25	-0,08	-0,63	-0,10	0,07	0,17	0,15	0,29
G52Y	-0,33	-0,01	0,11	-0,01	-0,02	0,01	-0,15	-0,08	-0,09	0,00	-0,08	0,04	0,05	-0,15	0,02	0,12	0,40	0,31	0,46
P53A	-0,02	-0,29	0,02	0,05	0,04	0,02	0,07	-0,02	-0,02	0,02	0,18	0,30	-0,22	0,01	-0,06	0,15	0,46	0,05	0,47
P53C	-0,23	-0,51	-0,01	0,03	0,00	0,04	0,11	-0,08	-0,16	-0,02	-0,01	-0,15	0,01	-0,29	-0,11	0,12	0,31	0,06	0,42
P53D	-0,15	-0,41	0,01	0,00	0,02	0,01	-0,03	-0,03	-0,15	-0,26	0,27	0,16	-0,18	-0,23	-0,19	0,16	0,52	0,06	0,52
P53E	-0,08	-0,44	-0,03	-0,03	-0,02	0,02	-0,06	-0,12	-0,17	-0,29	0,20	0,22	-0,01	-0,43	-0,22	0,12	0,39	0,06	0,47
P53F	-0,12	-0,18	0,09	0,01	0,02	-0,01	0,09	0,19	-0,04	0,08	0,29	0,16	0,27	0,07	-0,06	0,17	0,40	0,05	0,41
P53G	-0,61	-0,53	-0,02	-0,20	-0,12	-0,12	-0,27	-0,21	-0,27	-0,52	-0,28	-0,39	-0,11	-0,18	-0,10	0,09	0,24	0,00	0,31
P53H	0,11	-0,25	0,01	0,09	0,07	0,09	0,08	0,07	0,07	0,14	0,90	0,35	-0,53	-0,08	0,10	0,28	0,58	0,05	0,85
P53I	0,01	-0,38	-0,06	0,05	0,02	0,06	-0,18	0,02	0,03	-0,02	0,09	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
P53K	-0,09	-0,33	0,03	0,00	0,00	0,02	0,06	-0,02	-0,07	0,05	0,23	0,17	-0,48	-0,09	0,01	0,17	0,52	0,06	0,64
P53L	0,09	-0,38	-0,03	0,00	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,02	0,09	0,05	0,13	-0,02	-0,15	-0,07	0,11	0,39	0,06	0,45
P53M	0,11	-0,38	-0,03	0,05	0,05	0,04	0,02	0,04	-0,05	-0,16	0,19	0,27	-0,19	-0,15	-0,12	0,13	0,43	0,06	0,50
P53N	-0,07	-0,38	0,01	-0,01	0,02	0,02	0,09	-0,04	-0,03	0,09	0,39	0,36	-0,55	-0,07	0,04	0,26	0,62	0,05	0,80

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
P53Q	0,00	-0,44	0,00	0,01	0,00	0,01	0,02	0,02	-0,06	-0,22	0,48	0,34	-0,27	0,01	-0,03	0,20	0,50	0,06	0,67
P53R	-0,12	-0,14	0,12	0,05	0,06	0,08	0,16	0,10	0,11	-0,07	0,35	0,16	-0,73	-0,09	0,22	0,27	0,63	0,04	0,86
P53S	-0,02	-0,50	-0,03	0,04	0,03	0,03	-0,03	0,03	-0,07	0,02	0,12	0,13	-0,34	-0,22	-0,09	0,15	0,42	0,05	0,58
P53T	0,16	-0,34	0,00	0,02	0,03	0,06	0,02	0,03	-0,08	0,03	0,13	0,25	-0,29	-0,03	-0,03	0,16	0,43	0,06	0,51
P53V	0,07	-0,39	0,00	0,00	0,02	0,03	0,03	-0,02	-0,08	-0,14	0,08	0,21	0,02	-0,15	-0,11	0,12	0,37	0,06	0,44
P53W	-0,17	-0,24	0,06	-0,04	-0,02	-0,04	-0,01	-0,10	-0,08	-0,21	0,12	0,12	-0,18	-0,39	-0,13	0,09	0,30	0,07	0,48
P53Y	-0,14	-0,48	-0,02	-0,03	0,01	0,07	-0,03	0,20	-0,13	0,07	0,21	0,17	0,12	-0,03	-0,12	0,13	0,39	0,06	0,41
V54A	-0,07	-0,07	0,03	0,04	0,05	0,05	0,19	0,02	-0,11	0,42	0,51	0,68	-0,16	-0,24	-0,08	0,08	0,21	0,07	0,32
V54C	-0,14	-0,37	0,02	0,01	0,04	0,06	0,11	-0,07	-0,04	0,06	0,22	0,28	-0,25	-0,41	-0,15	0,07	0,14	0,07	0,27
V54D	0,28	0,11	0,04	0,07	0,09	0,12	0,26	0,22	0,00	0,37	0,62	0,83	0,22	-0,14	-0,16	0,12	0,38	0,08	0,37
V54E	0,15	0,16	0,06	0,02	0,02	0,07	0,11	0,05	-0,12	0,12	0,39	0,43	0,02	-0,05	0,03	0,09	0,24	0,08	0,31
V54F	-0,08	0,01	0,00	0,00	-0,02	0,04	0,15	0,08	-0,04	0,17	0,17	0,34	0,07	-0,05	-0,03	0,09	0,21	0,07	0,29
V54G	-0,25	-0,74	-0,01	0,03	0,01	0,02	0,04	-0,04	0,03	0,49	0,33	0,42	-0,16	-0,45	-0,30	0,05	0,12	0,05	0,23
V54H	-0,02	0,07	0,02	0,06	0,05	0,08	0,16	0,10	-0,06	0,62	0,56	0,38	-0,21	-0,12	-0,08	0,09	0,25	0,07	0,35
V54I	-0,22	-0,27	-0,08	-0,09	-0,11	-0,06	-0,05	0,04	0,09	0,00	-0,04	0,07	0,40	-0,20	-0,24	0,00	0,00	0,00	0,28
V54K	0,34	-0,15	-0,01	0,20	0,03	0,11	0,15	0,26	0,05	0,14	0,76	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22
V54L	-0,29	-0,34	0,01	-0,02	-0,03	-0,01	0,05	-0,06	-0,05	0,08	0,12	0,19	-0,01	-0,31	-0,24	0,08	0,16	0,07	0,29
V54M	-0,21	-0,22	0,02	-0,04	-0,06	0,00	0,18	-0,06	-0,10	0,04	0,09	0,21	-0,29	-0,31	-0,20	0,06	0,15	0,06	0,29
V54N	-0,16	-0,74	-0,03	0,04	0,03	0,06	0,04	0,04	0,17	0,40	0,35	0,64	-0,02	-0,39	-0,28	0,06	0,15	0,06	0,25
V54P	-0,36	-0,26	0,21	0,29	0,22	0,29	0,60	0,35	0,19	0,00	0,00	0,00	-1,25	-0,62	0,04	0,47	0,54	0,05	1,17
V54Q	0,05	0,45	0,06	0,09	0,06	0,08	0,15	0,01	-0,08	0,27	0,40	0,36	0,22	0,20	0,10	0,11	0,24	0,07	0,29
V54R	-0,29	-0,45	0,21	0,05	0,05	0,07	0,18	-0,02	-0,04	0,41	0,97	0,55	0,04	-0,31	-0,15	0,07	0,14	0,07	0,27
V54S	-0,14	-0,19	0,00	0,05	0,04	0,06	0,07	0,15	0,09	0,59	0,63	0,51	-0,12	-0,23	-0,11	0,08	0,19	0,07	0,28
V54T	0,01	-0,15	0,00	0,01	-0,01	0,02	0,09	-0,06	0,00	-0,01	0,13	0,12	-0,30	-0,39	-0,17	0,07	0,12	0,06	0,27
V54W	-0,14	-0,29	0,01	0,06	0,03	0,06	0,10	0,01	-0,02	0,38	0,23	0,25	0,12	0,09	0,01	0,10	0,17	0,07	0,31
V54Y	0,18	0,04	0,06	0,09	0,09	0,12	0,12	0,11	0,22	0,45	0,50	0,23	0,25	0,38	0,14	0,09	0,18	0,07	0,25
L55A	-0,79	-0,82	0,00	-0,19	-0,17	-0,22	0,02	0,01	0,05	-0,65	-0,63	-0,72	-0,03	-0,48	-0,16	0,03	0,06	0,05	0,13
L55C	-0,58	-0,29	-0,01	-0,14	-0,16	-0,21	0,05	-0,05	-0,14	-0,81	-0,74	-0,60	-0,46	-0,47	-0,20	0,01	0,04	0,04	0,11
L55D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
L55E	-0,79	-0,83	-0,05	-0,19	-0,22	-0,23	-0,13	-0,01	-0,09	-1,02	-0,69	-0,68	0,05	-0,57	-0,19	0,03	0,07	0,04	0,16
L55F	-0,15	-0,77	-0,03	-0,04	-0,07	-0,04	0,15	-0,02	-0,19	0,15	0,20	0,14	0,17	-0,55	-0,25	0,08	0,25	0,06	0,30
L55G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,04
L55H	-1,06	-0,87	-0,05	-0,19	-0,26	-0,26	0,00	0,02	-0,13	-0,91	-0,96	-0,92	0,01	-0,05	-0,02	0,01	0,03	0,02	0,11
L55I	-0,05	-0,42	-0,13	-0,18	-0,20	-0,23	-0,01	-0,02	-0,02	0,11	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19
L55K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,03	0,04
L55M	-0,28	-0,26	-0,03	-0,08	-0,10	-0,09	-0,02	-0,05	-0,11	-0,07	-0,21	-0,13	-0,03	-0,07	-0,14	0,00	0,00	0,00	0,41
L55N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,04
L55P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,04
L55Q	-0,67	-0,73	-0,05	-0,15	-0,16	-0,21	-0,08	-0,05	0,06	-0,49	-0,50	-0,47	0,03	-0,42	-0,20	0,02	0,09	0,06	0,13
L55R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,04	0,08
L55S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	0,02	0,06
L55T	-0,38	-0,51	-0,03	-0,07	-0,08	-0,07	0,00	0,03	0,03	-0,07	-0,14	-0,22	0,22	-0,31	-0,18	0,04	0,11	0,05	0,19
L55V	-0,13	0,07	0,07	0,06	0,08	0,08	0,11	0,21	0,15	-0,36	0,00	0,09	-0,86	-0,34	0,11	0,29	0,49	0,05	0,75
L55W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,04
L55Y	-0,68	-0,94	-0,04	-0,16	-0,16	-0,14	-0,04	-0,03	-0,22	-0,25	-0,22	-0,07	-0,05	-0,65	-0,24	0,04	0,11	0,05	0,19
S56A	-0,13	-0,42	-0,05	-0,04	-0,02	-0,01	-0,05	-0,04	0,04	-0,06	-0,11	0,03	0,18	-0,31	-0,11	0,07	0,16	0,06	0,30
S56C	-0,23	-0,52	-0,02	-0,08	-0,07	-0,03	0,02	0,02	-0,08	-0,34	-0,27	-0,17	-0,07	-0,45	-0,17	0,11	0,30	0,07	0,52
S56D	-0,08	-1,00	-0,12	-0,06	-0,09	-0,07	0,03	-0,10	-0,08	-0,07	-0,27	-0,19	-0,18	-0,52	-0,18	0,08	0,20	0,06	0,33
S56E	-0,16	-0,61	-0,06	-0,05	-0,02	-0,01	0,02	-0,01	-0,08	-0,40	-0,31	-0,25	0,07	-0,21	-0,18	0,14	0,32	0,06	0,38
S56F	-0,29	-0,89	-0,06	-0,09	-0,12	-0,10	-0,02	-0,03	-0,17	-0,43	-0,34	-0,21	-0,04	-0,45	-0,18	0,17	0,44	0,06	0,52
S56G	-0,09	-0,13	0,11	0,03	0,02	0,04	0,11	0,06	0,08	-0,06	-0,14	0,01	-0,04	-0,29	-0,12	0,13	0,35	0,00	0,43
S56H	-0,25	-0,91	-0,10	-0,08	-0,08	-0,08	-0,01	-0,10	-0,12	-0,23	-0,22	-0,15	-0,11	-0,46	-0,19	0,09	0,22	0,06	0,35
S56I	-0,42	-1,03	-0,11	-0,19	-0,19	-0,16	-0,08	-0,13	-0,26	-0,43	-0,43	-0,41	-0,10	-0,49	-0,20	0,13	0,28	0,06	0,47
S56K	-0,24	-0,78	-0,02	-0,07	-0,07	-0,07	0,00	-0,01	-0,08	0,05	0,19	-0,11	0,17	-0,26	-0,12	0,11	0,21	0,06	0,30
S56L	-0,34	-1,06	-0,12	-0,12	-0,14	-0,13	-0,01	-0,09	-0,19	-0,41	-0,37	-0,26	-0,11	-0,52	-0,19	0,09	0,22	0,06	0,36
S56M	-0,18	-0,65	-0,07	-0,04	-0,06	-0,05	0,02	0,01	-0,03	-0,15	-0,10	-0,14	-0,11	-0,32	-0,13	0,08	0,20	0,07	0,33
S56N	-0,22	-0,68	-0,09	-0,02	-0,02	-0,04	-0,01	-0,09	-0,05	-0,16	-0,11	-0,15	-0,61	-0,47	-0,17	0,06	0,13	0,06	0,32
S56P	-0,82	-1,16	-0,14	-0,35	-0,33	-0,15	-0,44	-0,48	-0,39	-0,42	0,02	0,24	-0,40	-0,43	-0,14	0,02	0,06	0,04	0,15
S56Q	-0,01	-0,63	-0,09	-0,06	-0,09	-0,06	0,00	-0,02	-0,01	-0,12	-0,08	-0,05	0,23	0,14	-0,06	0,10	0,24	0,06	0,31
S56R	-0,19	-0,66	-0,01	-0,02	-0,03	-0,02	0,04	0,00	-0,02	0,25	0,22	0,24	-0,43	-0,46	-0,16	0,08	0,21	0,06	0,50
S56T	-0,16	-0,73	-0,11	-0,06	-0,08	-0,05	0,02	-0,05	-0,08	-0,23	-0,15	-0,07	-0,02	-0,05	-0,10	0,11	0,24	0,06	0,39
S56V	-0,21	-0,87	-0,10	-0,10	-0,10	-0,08	0,02	-0,03	-0,12	-0,25	-0,30	-0,24	-0,09	-0,44	-0,16	0,12	0,31	0,06	0,48
S56W	-0,71	-1,10	-0,13	-0,20	-0,24	-0,21	-0,26	-0,37	-0,25	-0,72	-0,62	-0,49	0,03	-0,50	-0,19	0,06	0,18	0,03	0,22
S56Y	-0,31	-1,00	-0,13	-0,11	-0,13	-0,10	-0,04	-0,09	-0,20	-0,20	-0,28	-0,20	0,05	-0,46	-0,19	0,11	0,24	0,06	0,35
R57A	-0,68	-0,71	-0,01	-0,07	-0,07	-0,07	-0,11	-0,07	-0,09	-0,24	-0,25	-0,26	-0,47	-0,71	-0,30	0,02	0,06	0,04	0,19
R57C	-0,26	-0,71	-0,04	-0,05	-0,02	0,09	-0,07	-0,11	-0,15	0,05	-0,02	-0,14	-0,65	-0,65	-0,26	0,02	0,05	0,03	0,21
R57D	0,19	0,23	0,08	0,27	0,45	0,93	0,20	0,18	0,43	1,79	1,00	1,37	0,04	-0,52	-0,18	0,12	0,30	0,15	0,37
R57E	-0,24	-0,34	0,00	0,29	0,51	1,04	-0,01	0,11	0,12	1,13	1,76	2,07	0,34	-0,50	-0,19	0,09	0,28	0,17	0,26
R57F	-0,74	-0,74	-0,04	0,01	0,00	0,00	-0,02	-0,14	-0,15	-0,16	-0,28	-0,22	-0,45	-0,32	-0,04	0,02	0,04	0,03	0,14
R57G	-0,79	-0,65	-0,04	-0,13	-0,12	-0,10	-0,20	-0,29	-0,21	-0,34	-0,42	-0,39	-0,69	-0,49	-0,10	0,02	0,06	0,00	0,15
R57H	-0,41	-0,27	0,02	-0,12	-0,11	-0,11	-0,12	-0,08	-0,15	-0,49	-0,49	-0,33	0,17	-0,50	-0,31	0,03	0,11	0,08	0,17
R57I	-0,24	-0,61	-0,04	-0,01	0,01	-0,01	0,00	0,03	0,14	0,13	0,21	0,18	-0,32	-0,38	-0,09	0,02	0,06	0,05	0,16
R57K	-0,05	-0,05	0,02	-0,14	-0,10	-0,07	-0,25	-0,36	-0,27	0,10	-0,01	0,00	-0,46	-0,45	-0,10	0,02	0,06	0,04	0,16
R57L	-0,55	-0,72	-0,02	-0,07	-0,08	-0,10	0,07	0,04	0,01	-0,18	-0,27	-0,25	-0,27	-0,49	-0,13	0,03	0,11	0,08	0,23
R57M	-0,81	-0,72	-0,01	-0,11	-0,06	-0,11	0,25	-0,12	-0,25	-0,43	-0,62	-0,41	-0,62	-0,91	-0,51	0,02	0,05	0,03	0,13
R57N	-0,05	0,29	0,01	-0,05	-0,02	-0,05	0,08	0,01	0,06	-0,17	-0,19	-0,03	-0,41	-0,31	-0,06	0,03	0,11	0,08	0,29
R57P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,09
R57Q	-0,61	-0,70	-0,04	-0,06	-0,08	-0,08	0,15	-0,09	-0,25	-0,18	-0,17	-0,15	-0,22	-0,53	-0,18	0,01	0,04	0,03	0,16
R57S	-0,47	-0,74	-0,04	-0,08	-0,08	-0,08	-0,05	0,01	-0,12	-0,33	-0,37	-0,11	-0,44	-0,86	-0,49	0,02	0,07	0,05	0,13
R57T	-0,08	-0,38	-0,01	0,01	0,03	0,02	0,11	0,12	0,11	0,00	0,02	0,04	-0,10	-0,38	-0,12	0,05	0,16	0,10	0,28
R57V	-0,08	-0,60	-0,03	-0,02	0,00	-0,02	0,14	0,11	0,17	-0,02	-0,03	0,16	-0,47	-0,55	-0,17	0,03	0,08	0,05	0,30
R57W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
R57Y	0,06	-0,44	-0,01	0,12	0,10	0,11	0,24	0,23	0,42	0,22	0,10	0,48	0,52	0,08	-0,02	0,04	0,16	0,12	0,20
F58A	0,05	-0,56	-0,13	-0,17	-0,32	-0,23	0,09	-0,08	0,03	0,00	-0,10	-0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33
F58C	0,28	0,20	0,03	0,06	0,07	0,07	0,17	0,18	-0,06	0,09	0,08	0,37	0,09	0,04	-0,07	0,04	0,12	0,09	0,21
F58D	-0,30	-0,32	-0,05	-0,28	-0,20	-0,18	-0,04	-0,18	-0,02	-1,07	-0,91	-0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
F58E	0,65	0,49	0,08	0,15	0,14	0,16	0,21	0,32	0,12	0,23	0,54	0,75	0,51	0,20	-0,05	0,10	0,37	0,23	0,44
F58G	0,25	0,28	0,07	0,09	0,11	0,12	0,18	0,23	-0,03	0,10	0,10	0,08	0,35	0,05	-0,16	0,08	0,24	0,00	0,34
F58H	0,39	0,45	0,12	0,13	0,15	0,16	0,27	0,18	0,03	0,42	0,39	0,67	0,31	0,22	-0,03	0,17	0,44	0,25	0,53
F58I	0,34	0,15	0,01	0,03	0,02	0,07	0,08	0,15	-0,02	0,16	0,18	0,41	0,01	-0,27	-0,21	0,05	0,16	0,12	0,31
F58K	0,61	0,68	0,28	0,18	0,18	0,22	0,23	0,39	0,05	0,54	0,53	0,81	0,33	0,29	0,09	0,12	0,41	0,25	0,49
F58L	0,05	-0,02	-0,01	0,00	-0,01	-0,02	0,02	0,08	0,00	-0,05	-0,10	0,04	-0,10	-0,01	-0,04	0,02	0,05	0,05	0,18
F58M	0,08	-0,11	0,00	0,01	0,01	0,01	-0,04	0,14	0,05	0,10	-0,04	0,05	-0,06	-0,05	-0,08	0,02	0,06	0,05	0,16
F58N	0,36	0,25	0,03	0,06	0,04	0,07	0,17	0,26	0,07	0,18	0,17	0,45	0,16	0,12	0,02	0,04	0,11	0,09	0,22
F58P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,04
F58Q	-0,17	-0,58	-0,10	-0,45	-0,57	-0,57	0,01	-0,06	0,05	0,40	0,22	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,62
F58R	0,10	0,11	0,02	0,04	0,04	0,04	0,18	0,16	0,08	0,32	-0,03	0,10	0,04	-0,07	-0,02	0,03	0,10	0,07	0,20
F58S	0,55	0,54	0,08	0,12	0,11	0,14	0,21	0,33	0,00	0,34	0,34	0,31	0,40	0,07	0,00	0,09	0,30	0,19	0,35
F58T	0,28	0,01	0,02	0,05	0,04	0,07	0,17	0,17	-0,08	0,12	-0,01	0,20	-0,05	-0,17	-0,14	0,05	0,17	0,13	0,37
F58V	0,45	0,04	-0,01	0,11	0,09	0,11	0,07	0,08	0,09	0,20	0,30	0,27	0,17	0,17	0,00	0,05	0,14	0,11	0,23

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
F58W	0,43	0,46	0,02	0,06	0,05	0,09	0,11	0,15	0,08	0,33	0,23	0,31	0,06	0,07	-0,08	0,03	0,11	0,09	0,24
F58Y	0,27	0,16	0,01	0,12	0,06	0,08	0,14	0,12	0,07	0,21	0,21	0,38	-0,22	0,11	0,01	0,02	0,09	0,07	0,36
V59A	-0,17	0,44	0,02	-0,01	0,03	0,03	-0,01	-0,01	0,01	0,19	0,32	0,37	0,13	0,46	0,34	0,08	0,22	0,16	0,28
V59C	0,10	0,69	0,14	0,11	0,13	0,15	0,12	0,10	0,18	0,24	0,01	0,53	-0,77	-0,01	0,46	0,20	0,41	0,21	0,52
V59D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
V59E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
V59F	-0,75	-0,77	-0,02	-0,23	-0,22	-0,23	-0,16	-0,30	-0,17	-0,74	-1,00	-0,51	-0,53	-0,85	-0,38	0,02	0,06	0,05	0,15
V59G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
V59H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,07
V59I	0,10	-0,25	-0,03	0,00	0,00	-0,04	-0,13	-0,11	-0,01	-0,21	-0,14	-0,31	0,12	-0,14	-0,11	0,10	0,18	0,15	0,31
V59K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
V59L	-0,02	-0,41	-0,02	0,10	0,09	0,08	0,15	0,12	0,01	0,27	-0,04	0,15	-0,26	-0,53	-0,19	0,15	0,38	0,23	0,47
V59M	-0,05	-0,23	-0,02	0,09	0,09	0,06	0,11	0,05	-0,03	0,30	0,32	0,08	-0,13	-0,37	-0,18	0,17	0,40	0,23	0,44
V59N	-0,87	-0,39	0,02	-0,15	-0,17	-0,17	-0,17	-0,35	-0,06	-0,84	-0,75	-0,33	-0,47	0,04	0,19	0,03	0,04	0,04	0,13
V59P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,08
V59Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
V59R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,01	0,05
V59S	-0,67	-0,05	0,02	-0,17	-0,17	-0,15	-0,19	-0,13	0,01	-0,48	-0,55	-0,32	-0,38	-0,25	-0,09	0,02	0,05	0,04	0,13
V59T	0,14	0,79	0,14	0,06	0,08	0,08	0,15	0,03	0,05	0,28	0,11	0,25	0,03	0,43	0,24	0,11	0,33	0,19	0,36
V59W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,01	0,06
V59Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
Q60A	0,02	0,04	-0,02	0,01	0,01	-0,01	-0,04	-0,06	-0,04	-0,15	-0,03	-0,09	0,21	0,23	0,12	0,07	0,20	0,14	0,26
Q60C	0,40	0,68	0,07	0,21	0,32	0,38	0,12	0,10	0,11	0,47	0,67	0,44	0,00	0,71	0,38	0,08	0,24	0,18	0,32
Q60D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
Q60E	-0,10	-0,36	-0,01	-0,06	-0,04	-0,07	-0,12	-0,06	-0,08	-0,58	-0,15	-0,21	-0,06	-0,22	-0,07	0,04	0,14	0,10	0,29
Q60F	-0,17	0,05	0,01	-0,04	-0,04	-0,03	-0,01	-0,09	-0,06	-0,44	-0,15	-0,12	-0,22	-0,27	-0,10	0,04	0,12	0,08	0,24
Q60G	0,34	0,64	0,09	0,18	0,20	0,20	0,11	0,13	0,09	0,38	0,47	0,36	-0,43	0,32	0,28	0,19	0,46	0,22	0,47
Q60H	0,10	0,51	0,05	0,10	0,14	0,10	0,05	0,00	-0,02	0,17	0,37	0,46	-0,06	0,26	0,22	0,12	0,34	0,20	0,41
Q60I	0,24	0,47	0,03	0,07	0,04	0,04	0,14	0,10	0,04	-0,15	0,09	0,20	-0,08	0,29	0,08	0,13	0,39	0,22	0,38
Q60K	0,06	0,10	-0,02	0,05	0,02	0,04	0,12	0,04	0,11	0,14	0,05	0,26	-0,08	0,31	0,33	0,07	0,15	0,11	0,25
Q60L	0,13	0,62	0,13	0,13	0,14	0,15	0,06	0,07	0,04	0,38	0,36	0,35	0,03	0,36	0,32	0,10	0,33	0,20	0,38
Q60M	0,18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,18
Q60N	0,18	-0,02	-0,02	0,05	0,04	0,06	0,07	0,04	0,07	0,33	0,03	0,17	0,06	0,13	0,19	0,09	0,19	0,14	0,33
Q60P	-0,40	-0,60	-0,03	-0,12	-0,13	-0,13	-0,06	-0,19	-0,09	-0,59	-0,38	-0,41	-0,61	-0,88	-0,50	0,01	0,04	0,03	0,11
Q60R	0,11	0,18	0,00	0,03	0,04	0,03	-0,01	0,02	0,05	0,31	0,16	0,17	-0,05	0,11	0,15	0,08	0,17	0,12	0,29
Q60S	-0,10	0,03	0,06	0,01	0,03	-0,01	0,00	-0,03	-0,03	-0,03	0,06	0,09	-0,11	-0,04	-0,02	0,08	0,23	0,14	0,34
Q60T	0,22	0,28	0,02	0,09	0,06	0,08	-0,03	0,02	0,08	0,11	0,26	0,20	0,36	0,24	0,02	0,09	0,26	0,16	0,30
Q60V	0,01	0,47	0,03	0,00	0,00	0,03	0,01	-0,06	-0,05	-0,28	-0,02	0,11	0,23	0,28	0,20	0,07	0,21	0,13	0,24
Q60W	0,03	0,51	0,06	0,07	0,06	0,08	0,03	0,05	0,02	-0,37	-0,06	0,12	0,05	0,17	0,16	0,08	0,20	0,13	0,28
Q60Y	0,32	0,68	0,01	0,11	0,10	0,09	-0,04	0,05	0,02	0,22	0,20	0,21	0,06	0,34	0,23	0,11	0,29	0,17	0,31
K61A	0,16	0,08	-0,01	0,08	0,04	0,07	0,08	-0,06	0,05	-0,31	0,08	-0,01	0,19	0,28	0,12	0,06	0,16	0,23	0,32
K61C	0,05	0,50	0,07	0,17	0,21	0,20	0,17	0,01	0,16	-0,04	0,28	0,25	0,05	0,22	0,18	0,12	0,40	0,39	0,51
K61D	-0,07	0,18	0,25	0,14	0,18	0,18	0,18	0,01	0,12	-0,61	0,04	0,02	-0,67	0,12	0,09	0,31	0,63	0,59	0,94
K61E	0,14	0,34	0,06	0,25	0,27	0,21	0,15	0,09	0,17	-0,23	0,36	0,26	-0,47	0,24	0,18	0,27	0,59	0,54	0,69
K61F	-0,06	0,35	0,07	0,10	0,10	0,09	0,06	-0,02	0,02	0,31	0,18	0,00	0,20	0,12	0,00	0,08	0,26	0,24	0,39
K61G	0,11	0,40	0,10	0,24	0,21	0,20	0,10	0,05	0,13	0,08	0,28	0,34	-0,22	0,33	0,24	0,19	0,53	0,31	0,65
K61H	-0,07	-0,26	-0,03	0,06	0,04	0,01	0,03	-0,02	0,03	-0,45	-0,05	-0,10	-0,14	0,03	0,06	0,05	0,16	0,17	0,29
K61I	-0,23	0,10	-0,05	-0,15	-0,13	-0,19	-0,07	-0,14	-0,07	-0,43	-0,52	-0,42	-0,19	-0,06	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,30
K61L	0,05	0,50	0,07	0,12	0,13	0,11	0,05	-0,02	0,03	-0,01	0,15	0,11	0,11	0,25	0,08	0,10	0,34	0,26	0,35
K61M	0,19	0,13	-0,04	0,08	0,08	0,04	-0,02	-0,02	-0,02	-0,20	0,08	0,02	0,09	0,21	0,08	0,07	0,10	0,16	0,28
K61N	0,16	0,66	0,19	0,14	0,17	0,13	0,09	0,06	0,14	0,02	0,29	0,26	0,01	0,30	0,19	0,13	0,38	0,38	0,49
K61P	-0,59	-0,06	-0,04	-0,11	-0,07	-0,19	-0,38	-0,47	-0,24	-1,05	-0,60	-0,65	0,12	-0,26	-0,06	0,01	0,03	0,02	0,21
K61Q	0,04	-0,05	-0,02	0,07	0,03	0,01	0,11	-0,03	-0,01	-0,39	0,07	-0,09	0,19	0,21	0,10	0,08	0,23	0,22	0,35
K61R	-0,10	-0,05	0,01	0,04	0,00	0,00	0,03	-0,01	0,02	-0,02	-0,02	-0,05	-0,08	-0,11	-0,08	0,06	0,17	0,11	0,31
K61S	0,04	0,08	0,03	0,03	0,08	0,03	0,14	-0,02	0,00	-0,44	0,26	-0,09	0,52	0,30	0,23	0,10	0,27	0,28	0,38
K61T	0,14	0,36	0,03	0,18	0,17	0,16	0,09	0,10	0,14	-0,10	0,21	0,18	0,02	0,26	0,10	0,16	0,44	0,42	0,51
K61V	0,00	0,50	0,03	0,08	0,07	0,08	0,03	-0,02	-0,04	-0,10	0,08	0,12	0,23	0,33	0,12	0,07	0,21	0,22	0,29
K61W	-0,25	0,20	0,04	-0,06	-0,03	-0,01	-0,03	-0,14	-0,01	-0,29	-0,07	-0,20	-0,19	-0,05	-0,06	0,05	0,15	0,13	0,29
K61Y	0,29	0,80	0,05	0,13	0,24	0,19	0,12	0,11	0,15	0,01	0,21	0,20	-1,11	-0,56	-0,20	0,08	0,30	0,26	0,40
V62A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
V62C	-0,22	-0,03	-0,03	-0,07	-0,07	-0,08	0,03	0,03	-0,04	-0,01	0,04	-0,06	0,01	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38
V62D	-0,16	-0,19	-0,04	-0,07	-0,08	-0,08	0,05	0,01	-0,02	-0,25	-0,20	-0,13	0,00	-0,07	-0,15	0,00	0,00	0,00	0,29
V62E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,01	0,06
V62F	-0,63	-0,90	-0,04	-0,12	-0,16	-0,15	-0,25	-0,25	-0,01	-0,72	-0,33	-0,33	-0,38	-0,21	-0,05	0,02	0,06	0,07	0,13
V62G	-0,40	-0,72	0,02	-0,28	-0,21	-0,16	-0,49	-0,31	-0,14	-1,18	-0,70	-0,51	-0,06	-0,11	-0,10	0,01	0,03	0,02	0,15
V62H	-0,26	-0,54	0,03	-0,23	-0,20	-0,24	-0,20	-0,22	-0,07	-0,83	-0,61	-0,55	-0,58	-0,47	-0,17	0,02	0,04	0,03	0,10
V62I	0,09	0,03	-0,01	-0,01	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	-0,05	0,34	0,27	0,28	0,08	0,27	0,22	0,34
V62K	-0,29	-0,16	0,02	-0,10	-0,06	-0,06	-0,18	-0,16	-0,11	-0,22	-0,17	-0,18	0,09	-0,01	-0,05	0,09	0,29	0,23	0,33
V62L	0,11	0,22	0,04	0,02	0,03	0,07	0,00	0,03	0,00	-0,05	0,09	0,08	0,05	-0,09	-0,04	0,13	0,38	0,35	0,44
V62M	-0,07	0,30	0,05	-0,04	0,03	-0,01	-0,04	-0,04	-0,13	-0,30	-0,21	-0,04	-0,02	-0,09	-0,11	0,07	0,24	0,22	0,34
V62N	-0,25	-0,83	0,04	-0,21	-0,15	-0,22	-0,50	-0,24	-0,11	-1,11	-0,75	-0,63	-0,06	0,00	-0,06	0,01	0,02	0,02	0,10
V62P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
V62Q	-0,34	-0,46	0,00	-0,12	-0,10	-0,14	-0,19	-0,21	-0,01	-0,78	-0,58	-0,43	0,10	0,02	-0,12	0,02	0,05	0,05	0,15
V62R	-0,14	-0,01	0,02	-0,12	-0,12	-0,09	-0,26	-0,21	-0,12	-0,34	-0,41	-0,27	-0,22	-0,18	-0,04	0,03	0,09	0,10	0,23
V62S	-0,27	-0,31	-0,01	-0,10	-0,07	-0,10	-0,19	-0,12	-0,01	-0,52	-0,33	-0,28	0,28	0,03	0,00	0,03	0,12	0,12	0,21
V62T	0,00	0,39	0,09	0,05	0,07	0,10	0,00	-0,02	0,00	0,15	0,16	0,17	-0,46	0,18	0,19	0,18	0,60	0,49	0,63
V62W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
V62Y	-0,17	-0,08	0,01	-0,07	-0,07	-0,06	-0,28	-0,17	-0,12	-0,38	-0,19	-0,15	0,14	0,07	0,00	0,02	0,13	0,08	0,20
L63A	-0,05	0,42	0,07	0,08	0,09	0,07	0,05	0,04	0,08	0,09	0,17	0,21	0,17	0,18	0,09	0,12	0,30	0,28	0,35
L63C	0,26	0,59	0,05	0,18	0,21	0,21	0,20	0,18	0,26	0,20	0,35	0,29	-0,57	0,19	0,37	0,23	0,46	0,45	0,55
L63D	-0,68	-0,38	-0,02	-0,25	-0,16	-0,20	-0,26	-0,37	-0,25	-1,19	-0,72	-0,50	-0,69	-0,32	-0,09	0,01	0,05	0,04	0,13
L63E	-0,42	-0,30	-0,01	-0,18	-0,19	-0,18	-0,07	-0,20	0,01	-0,77	-0,62	-0,41	-0,53	-0,43	-0,23	0,01	0,05	0,04	0,13
L63F	0,15	0,58	0,06	0,10	0,14	0,14	0,17	0,12	0,12	-0,03	0,11	0,33	-0,02	0,15	0,25	0,16	0,33	0,34	0,46
L63G	-0,52	-0,38	-0,01	-0,25	-0,21	-0,18	-0,25	-0,18	-0,03	-1,12	-0,59	-0,49	-0,44	-0,28	-0,04	0,02	0,04	0,04	0,12
L63H	-0,29	-0,06	0,01	-0,10	-0,11	-0,06	0,01	-0,19	-0,04	-0,75	-0,42	-0,21	-0,35	-0,24	-0,03	0,03	0,09	0,10	0,19
L63I	-0,06	-0,11	-0,02	-0,03	-0,05	-0,06	0,07	0,05	-0,06	0,06	-0,13	-0,10	-0,01	-0,04	-0,05	0,07	0,19	0,19	0,30
L63K	0,10	0,51	0,09	0,02	0,01	0,00	-0,02	0,02	0,03	-0,14	-0,13	0,09	0,07	0,12	0,11	0,08	0,16	0,17	0,29
L63M	-0,04	-0,16	-0,01	-0,02	0,03	0,01	0,07	0,00	0,03	-0,12	-0,01	0,00	0,07	0,05	0,05	0,07	0,19	0,16	0,34
L63N	-0,43	-0,32	-0,02	-0,28	-0,28	-0,23	-0,22	-0,18	-0,05	-0,96	-0,69	-0,50	-0,41	-0,32	-0,06	0,02	0,04	0,04	0,13
L63P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,06
L63Q	-0,14	-0,08	-0,03	-0,06	-0,06	-0,05	0,06	0,03	0,00	0,07	-0,01	-0,08	0,06	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53
L63R	0,17	0,67	0,14	0,08	0,11	0,14	0,05	0,11	0,18	-0,15	0,24	0,27	-0,18	0,14	0,19	0,13	0,33	0,36	0,49
L63S	-0,05	0,37	0,03	-0,01	0,04	0,01	0,02	0,01	-0,02	-0,05	-0,01	-0,03	0,11	0,05	0,00	0,07	0,17	0,16	0,27
L63T	-0,10	0,33	0,06	0,03	0,06	0,05	0,04	0,06	0,09	0,07	0,02	0,16	0,28	0,14	0,02	0,11	0,25	0,25	0,36
L63V	0,19	0,41	0,08	0,06	0,13	0,11	0,28	0,24	0,27	0,17	0,26	0,26	-0,19	0,06	0,08	0,21	0,45	0,42	0,48
L63W	-0,32	-0,49	0,00	-0,24	-0,23	-0,23	-0,30	-0,15	0,05	-0,97	-0,72	-0,38	-0,56	-0,24	-0,10	0,01	0,03	0,03	0,10
L63Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
D64A	-0,01	0,04	0,00	-0,03	-0,06	-0,01	0,05	-0,01	0,02	0,57	0,26	0,26	0,04	0,10	0,10	0,14	0,38	0,35	0,47
D64C	0,27	0,04	0,06	0,11	0,06	0,03	-0,05	-0,09	-0,01	0,52	0,16	0,21	-0,03	-0,30	-0,25	0,05	0,13	0,14	0,23
D64E	0,09	0,03	0,09	-0,03	-0,03	-0,05	0,06	0,06	-0,02	0,27	-0,25	-0,03	-0,22	0,19	0,17	0,15	0,36	0,37	0,54

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
D64F	0,18	0,20	0,01	-0,07	-0,08	-0,04	0,08	-0,09	0,02	0,17	-0,03	0,02	-0,10	-0,21	-0,06	0,06	0,14	0,16	0,28
D64G	0,04	0,09	0,03	0,02	0,02	0,06	0,11	0,03	0,08	0,53	0,20	0,34	-0,37	-0,41	-0,03	0,10	0,22	0,00	0,48
D64H	-0,04	0,00	0,02	-0,04	-0,03	-0,01	0,09	-0,02	0,04	0,34	0,06	0,24	-0,07	-0,07	0,13	0,13	0,31	0,29	0,52
D64I	-0,15	0,08	0,00	-0,08	-0,08	-0,11	0,17	0,16	0,06	-0,03	-0,07	0,00	0,02	-0,02	-0,04	0,00	0,00	0,00	0,30
D64K	0,08	0,25	0,00	0,02	-0,01	0,04	0,09	-0,04	0,05	0,80	0,25	0,31	0,10	-0,14	0,14	0,10	0,21	0,17	0,39
D64L	0,10	-0,01	0,00	-0,02	-0,06	-0,03	0,03	-0,05	0,01	0,33	0,03	0,03	0,14	-0,01	0,04	0,09	0,24	0,23	0,38
D64M	-0,06	-0,13	-0,01	-0,05	-0,09	-0,02	0,01	-0,14	0,04	0,14	-0,07	0,11	0,15	-0,08	-0,01	0,09	0,25	0,20	0,37
D64N	0,06	0,19	0,03	0,01	-0,04	0,05	0,04	0,01	-0,01	0,55	0,30	0,19	-0,06	-0,02	0,08	0,10	0,25	0,28	0,51
D64P	-0,42	-0,35	-0,02	-0,26	-0,30	-0,23	-0,03	-0,24	-0,07	-0,84	-0,56	-0,55	-0,24	-0,44	-0,15	0,01	0,04	0,03	0,13
D64Q	-0,12	0,06	0,01	0,01	-0,03	0,04	0,08	-0,05	0,00	0,32	0,10	0,16	0,06	0,00	0,18	0,11	0,31	0,30	0,47
D64R	0,08	0,29	0,10	0,05	0,03	0,06	0,01	-0,05	0,05	0,58	0,23	0,31	0,01	-0,08	0,11	0,08	0,18	0,18	0,37
D64S	0,14	0,13	-0,02	0,05	0,08	0,07	0,02	-0,03	0,05	0,72	0,39	0,33	0,03	-0,18	0,04	0,11	0,18	0,22	0,38
D64T	0,08	0,07	0,00	-0,01	-0,02	0,02	0,07	-0,01	0,10	0,53	0,22	0,25	0,18	-0,05	0,08	0,08	0,27	0,25	0,38
D64V	-0,12	-0,03	0,00	-0,04	-0,01	0,01	0,05	-0,01	0,04	0,22	0,14	0,08	0,19	0,03	0,16	0,10	0,27	0,26	0,39
D64W	0,18	0,37	-0,02	0,05	0,00	0,03	0,13	0,01	0,06	0,58	0,24	0,26	0,21	-0,07	0,07	0,08	0,23	0,23	0,32
D64Y	-0,20	0,06	0,04	-0,05	-0,02	0,00	0,00	0,09	-0,06	0,16	0,02	-0,09	-0,21	-0,38	-0,20	0,08	0,24	0,22	0,41
E65A	0,04	0,49	0,10	0,07	0,05	0,06	0,14	0,02	0,05	0,39	0,18	0,26	0,04	0,00	0,00	0,14	0,34	0,25	0,49
E65C	0,14	0,64	0,18	0,20	0,16	0,14	0,15	0,20	0,00	0,51	0,26	0,44	-0,06	0,00	0,00	0,05	-0,02	0,20	0,48
E65D	0,57	-0,17	-0,05	-0,05	-0,02	-0,12	0,12	0,21	0,04	1,18	0,64	-0,07	-0,02	-0,03	-0,04	0,00	0,00	0,00	0,14
E65F	0,13	0,98	0,26	0,21	0,21	0,19	0,14	0,16	0,14	0,85	0,65	0,64	0,19	0,00	0,00	0,18	0,51	0,35	0,51
E65G	0,06	0,72	0,08	0,09	0,13	0,11	0,13	0,11	0,07	0,61	0,28	0,51	0,11	0,00	0,00	0,15	0,42	0,19	0,49
E65H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
E65I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
E65K	0,24	0,59	0,25	0,23	0,20	0,22	0,31	0,19	0,19	0,45	0,45	0,49	-0,25	0,00	0,00	0,27	0,57	0,39	0,67
E65L	0,18	0,81	0,12	0,14	0,13	0,11	0,13	0,15	0,08	0,68	0,43	0,49	0,17	0,00	0,00	0,14	0,38	0,28	0,48
E65M	0,37	0,80	0,02	0,11	0,16	0,16	0,16	0,17	0,19	1,23	0,56	0,60	0,49	0,00	0,00	0,17	0,45	0,32	0,42
E65N	0,05	0,43	0,04	0,07	0,08	0,06	-0,02	-0,09	0,02	0,59	0,17	0,25	0,04	0,00	0,00	0,07	0,24	0,16	0,35
E65P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,07
E65Q	0,32	0,45	0,04	0,13	0,13	0,11	0,13	0,18	0,09	1,10	0,40	0,32	0,34	0,00	0,00	0,13	0,42	0,27	0,43
E65R	0,03	0,53	0,35	0,16	0,13	0,16	0,27	0,13	0,17	0,54	0,38	0,52	-0,23	0,00	0,00	0,26	0,56	0,43	0,79
E65S	-0,19	0,28	0,15	-0,01	0,00	-0,01	0,05	-0,07	0,05	0,23	0,09	0,09	-0,28	0,00	0,00	0,06	0,23	0,14	0,43
E65T	-0,09	0,16	0,00	0,01	0,03	0,01	0,14	0,02	-0,04	0,42	0,19	0,14	-0,03	0,00	0,00	0,10	0,23	0,16	0,30
E65V	-0,09	0,54	0,08	0,04	0,10	0,05	0,11	0,05	0,01	0,63	0,30	0,21	0,00	0,00	0,00	0,12	0,26	0,22	0,47
E65W	0,15	1,10	0,31	0,21	0,23	0,18	0,14	0,08	0,09	1,03	0,62	0,64	0,29	0,00	0,00	0,14	0,41	0,27	0,47
E65Y	-0,09	0,26	0,10	0,05	-0,06	0,00	0,23	0,40	0,21	-0,04	0,11	-0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,59
T66A	0,19	0,34	0,01	0,03	0,04	0,00	-0,04	0,11	0,10	-0,04	-0,01	0,02	0,03	-0,33	-0,33	0,04	0,17	0,14	0,20
T66C	-0,04	0,18	-0,03	0,00	-0,07	-0,02	-0,01	-0,06	-0,26	0,19	0,06	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27
T66D	-0,18	0,34	0,18	-0,16	-0,21	-0,13	0,13	0,08	0,00	-0,20	-0,11	-0,10	0,22	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,30
T66E	-0,07	0,10	0,01	-0,02	-0,02	-0,02	-0,03	-0,03	0,11	-0,16	-0,17	-0,13	-0,09	-0,44	-0,44	0,02	0,06	0,06	0,15
T66F	-0,12	0,00	0,01	-0,06	-0,06	-0,02	-0,04	-0,07	0,12	-0,18	-0,18	-0,12	-0,14	-0,30	-0,30	0,02	0,08	0,05	0,13
T66G	0,05	0,02	0,01	-0,01	-0,01	-0,03	-0,02	0,00	0,11	-0,08	-0,02	-0,05	0,02	0,88	0,88	0,03	0,09	0,00	0,13
T66H	0,49	0,66	0,06	0,08	0,12	0,05	0,16	0,19	0,16	0,54	0,33	0,28	-0,17	-0,88	-0,88	0,25	0,61	0,50	0,50
T66I	-0,14	-0,18	0,00	-0,02	-0,06	-0,01	0,07	-0,25	0,05	-0,16	-0,07	-0,13	-0,04	0,40	0,40	0,02	0,07	0,06	0,11
T66K	0,20	0,22	0,01	0,04	0,04	0,03	-0,04	0,03	0,04	0,02	0,09	0,09	0,20	-0,12	-0,12	0,05	0,19	0,15	0,18
T66L	0,14	0,16	0,00	-0,03	-0,07	-0,05	0,06	-0,05	0,09	-0,17	-0,12	-0,05	0,33	-0,25	-0,25	0,02	0,05	0,05	0,12
T66M	-0,33	0,03	-0,03	-0,07	-0,08	-0,08	-0,15	0,03	-0,01	-0,23	-0,19	-0,19	-0,41	0,82	0,82	0,01	0,05	0,05	0,11
T66N	0,32	0,36	0,01	0,03	0,06	0,03	0,08	0,21	0,14	0,05	0,10	0,08	0,32	-0,05	-0,05	0,09	0,25	0,21	0,27
T66P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,03	0,07
T66Q	0,40	0,47	0,06	0,08	0,06	0,01	0,02	0,13	0,07	0,08	0,16	0,13	0,09	0,04	0,04	0,08	0,31	0,20	0,33
T66R	0,10	0,36	0,01	0,04	0,05	0,01	0,01	0,12	0,12	0,11	0,14	0,05	0,48	-0,39	-0,39	0,08	0,18	0,19	0,20
T66S	0,11	0,06	0,01	0,05	0,07	0,03	0,04	0,05	0,02	0,02	0,05	0,08	0,14	-0,39	-0,39	0,07	0,19	0,17	0,31
T66V	0,28	0,44	0,01	0,03	0,08	0,00	0,01	0,12	0,07	0,03	0,04	0,04	0,09	-0,34	-0,34	0,06	0,21	0,16	0,22
T66W	-0,13	-0,05	-0,01	0,01	0,01	0,05	-0,05	-0,05	-0,13	-0,10	0,04	-0,07	0,92	-1,41	-1,41	0,03	0,10	0,08	0,13
T66Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,03	0,09
G67A	0,24	0,61	-0,01	0,12	0,12	0,13	0,17	0,21	0,24	0,46	0,45	0,35	-0,37	-0,08	-0,08	0,27	0,53	0,44	0,45
G67C	-0,09	0,22	-0,03	0,22	0,29	0,05	0,06	0,18	0,08	0,38	0,31	0,25	0,24	0,20	0,20	0,16	0,45	0,31	0,37
G67D	-0,13	-0,02	-0,03	-0,05	-0,03	0,00	0,00	0,03	-0,05	0,02	-0,14	-0,10	0,07	0,01	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,60
G67E	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
G67F	-0,36	-0,08	0,00	-0,08	-0,12	-0,07	0,05	-0,08	-0,11	-0,28	-0,23	-0,27	-0,05	-0,16	-0,16	0,08	0,18	0,14	0,26
G67H	-0,18	-0,02	0,00	-0,02	-0,06	0,00	0,02	0,03	-0,04	-0,13	-0,10	-0,18	0,08	-0,14	-0,14	0,11	0,23	0,17	0,30
G67I	-0,47	-0,14	-0,02	-0,10	-0,15	-0,12	-0,02	0,00	-0,04	-0,32	-0,28	-0,32	0,03	-0,17	-0,17	0,07	0,23	0,13	0,25
G67K	-0,29	-0,12	-0,01	-0,08	-0,12	-0,06	0,05	0,03	-0,06	-0,13	-0,16	-0,12	-0,10	-0,06	-0,06	0,09	0,23	0,16	0,29
G67L	-0,18	0,22	-0,01	-0,01	-0,01	-0,04	0,09	0,10	0,05	0,02	0,04	0,00	0,23	0,15	0,15	0,13	0,34	0,25	0,34
G67M	-0,04	0,25	0,03	0,02	-0,01	0,04	0,02	0,07	0,05	0,29	0,13	0,13	0,04	-0,07	-0,07	0,22	0,51	0,39	0,45
G67N	0,11	0,27	0,00	0,01	0,00	0,04	0,06	0,11	-0,03	0,15	0,04	0,00	-0,09	-0,01	-0,01	0,20	0,54	0,36	0,44
G67P	-0,35	-0,07	-0,04	-0,09	-0,12	-0,08	-0,05	-0,05	-0,09	-0,23	-0,17	-0,24	-0,01	0,00	0,00	0,08	0,17	0,13	0,24
G67Q	-0,42	-0,08	-0,02	-0,06	-0,20	-0,08	-0,18	-0,15	-0,23	-0,26	-0,41	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,27	0,53	0,46	0,30
G67R	-0,03	0,29	0,03	0,03	-0,03	0,01	0,07	0,09	-0,01	0,09	0,15	-0,05	0,25	0,04	0,04	0,15	0,44	0,26	0,37
G67S	0,15	0,56	0,07	0,10	0,08	0,09	0,15	0,18	0,18	0,42	0,36	0,28	-0,59	-0,12	-0,12	0,27	0,52	0,47	0,55
G67T	0,03	0,25	-0,02	0,01	0,00	0,03	-0,01	0,10	0,02	0,23	0,19	0,11	0,17	-0,05	-0,05	0,15	0,40	0,28	0,38
G67V	-0,40	-0,20	-0,02	-0,15	-0,14	-0,22	-0,10	0,02	0,03	-0,36	-0,33	-0,36	-0,22	-0,07	-0,07	0,05	0,12	0,09	0,18
G67W	-0,10	0,21	0,23	0,15	0,39	1,08	-0,05	0,05	-0,05	0,32	0,46	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12
G67Y	-0,15	0,19	-0,02	-0,02	-0,07	-0,02	0,09	0,04	-0,08	0,00	-0,08	-0,08	0,27	0,22	0,22	0,09	0,24	0,18	0,24
A68C	0,07	0,13	0,06	0,08	0,07	0,08	0,05	0,00	0,08	0,11	0,12	0,12	-0,08	0,07	0,07	0,11	0,27	0,16	0,52
A68D	-0,04	-0,67	0,23	0,15	0,15	0,16	0,18	0,28	0,07	0,30	0,30	0,38	-0,41	-0,10	-0,10	0,24	0,48	0,46	0,68
A68E	0,10	-0,59	0,10	0,17	0,13	0,19	0,16	0,13	0,21	0,47	0,49	0,67	-0,22	-0,11	-0,11	0,21	0,55	0,42	0,70
A68F	-0,10	-0,36	0,45	0,12	0,13	0,13	0,15	0,01	0,08	0,31	0,30	0,23	-0,15	-0,35	-0,35	0,17	0,53	0,35	0,70
A68G	-0,08	-0,52	0,22	0,15	0,12	0,15	0,19	0,15	0,13	0,30	0,35	0,29	-0,46	-0,17	-0,17	0,29	0,51	0,45	0,73
A68H	-0,08	-0,31	0,28	0,15	0,15	0,16	0,18	0,10	0,11	0,43	0,48	0,61	-0,18	-0,08	-0,08	0,22	0,55	0,40	0,62
A68I	-0,33	-0,08	0,18	-0,01	-0,04	-0,02	-0,03	-0,13	-0,04	-0,02	0,06	0,11	-0,05	0,78	0,78	0,07	0,13	0,10	0,30
A68K	0,82	-0,08	-0,95	-0,60	-0,18	-0,54	0,17	0,13	-0,10	1,06	0,07	-0,26	0,00	0,00	0,00	0,20	0,45	0,35	0,09
A68L	-0,18	-0,03	0,09	0,05	0,05	0,09	0,05	0,06	0,13	0,10	0,22	0,22	0,11	0,00	0,00	0,14	0,38	0,26	0,45
A68M	-0,34	-0,27	-0,08	-0,20	-0,22	-0,13	0,01	-0,17	-0,46	-0,43	-0,19	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31
A68N	-0,09	-0,34	0,34	0,14	0,15	0,14	0,15	0,09	0,14	0,35	0,36	0,36	-0,27	0,01	0,01	0,27	0,56	0,46	0,66
A68P	-0,83	-1,26	-0,13	-0,13	-0,15	-0,15	-0,14	-0,29	-0,15	-0,31	-0,31	-0,36	-0,45	0,84	0,84	0,01	0,03	0,02	0,13
A68Q	0,04	0,31	0,47	0,09	0,03	0,05	0,09	0,02	0,10	0,13	0,14	0,16	-0,12	-0,19	-0,19	0,24	0,33	0,29	0,55
A68R	-0,17	-0,34	0,12	0,12	0,05	0,10	0,15	0,06	0,13	0,27	0,39	0,34	-0,03	-0,03	-0,03	0,16	0,52	0,34	0,62
A68S	0,11	0,09	0,09	0,03	0,02	0,02	0,03	-0,02	-0,02	-0,02	0,05	0,20	0,07	-0,23	-0,23	0,08	0,30	0,15	0,47
A68T	0,17	-0,44	0,28	0,15	0,14	0,13	0,19	0,13	0,12	0,44	0,49	0,51	-0,37	-0,32	-0,32	0,24	0,53	0,44	0,70
A68V	-0,14	-0,27	0,24	0,09	0,09	0,04	0,14	0,10	0,17	0,17	0,23	0,26	-0,15	-0,24	-0,24	0,22	0,49	0,39	0,61
A68W	-0,13	0,04	0,02	-0,01	0,00	0,02	0,05	-0,16	-0,06	0,10	0,24	0,19	0,06	-0,09	-0,09	0,06	0,21	0,13	0,36
A68Y	-0,07	0,00	0,72	0,12	0,08	0,08	0,12	0,03	0,07	0,30	0,43	0,63	-0,23	0,13	0,13	0,22	0,52	0,44	0,66
K69A	-0,13	-0,27	-0,04	0,00	0,01	-0,03	0,02	0,04	-0,09	-0,10	-0,05	-0,07	-0,13	-0,14	-0,11	0,07	0,21	0,15	0,30
K69C	0,64	-0,31	-1,07	-0,50	0,05	-0,30	-0,15	-0,19	-0,19	0,34	0,04	-0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
K69D	-0,12	-0,21	0,05	0,04	0,03	-0,01	-0,08	-0,12	-0,07	-0,13	-0,35	-0,31	0,22	-0,21	-0,18	0,09	0,30	0,22	0,32
K69E	0,41	-0,29	0,10	0,25	0,20	0,12	0,11	0,10	0,14	0,16	0,01	-0,02	0,24	-0,08	-0,16	0,07	0,21	0,19	0,24
K69F	0,06	0,42	0,01	0,02	0,02	0,03	-0,03	0,01	-0,04	0,14	0,23	0,22	-0,08	0,23	0,03	0,20	0,56	0,41	0,48
K69G	-0,01	0,16	0,00	0,02	0,04	0,04	0,03	0,10	0,06	0,10	0,08	0,11	-0,12	-0,05	-0,06	0,17	0,47	0,35	0,49
K69H	0,22	-0,14	-0,07	0,02	0,03	0,03	-0,12	0,22	0,01	0,12	0,13	0,09	0,07	0,05	-0,04	0,08	0,17	0,19	0,23
K69I	0,27	0,16	-0,01	0,09	0,10	0,08	-0,14	0,00	0,08	0,49	0,23	0,23	-0,02	0,28	0,07	0,16	0,45	0,32	0,41

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
K69L	0,13	0,19	-0,01	0,05	0,05	0,07	0,02	0,03	0,04	0,13	0,13	0,21	0,02	0,36	0,19	0,17	0,47	0,38	0,43
K69M	-0,14	0,13	0,07	-0,03	-0,01	-0,01	-0,08	0,05	-0,03	-0,16	-0,17	-0,12	-0,25	-0,03	-0,02	0,19	0,52	0,39	0,50
K69N	-0,04	-0,08	-0,03	0,01	0,04	-0,01	-0,02	0,00	0,00	-0,10	-0,02	-0,07	0,15	-0,01	-0,09	0,10	0,30	0,22	0,33
K69P	0,20	0,19	-0,05	0,13	0,16	0,13	0,16	0,09	0,13	0,35	0,21	0,25	0,27	0,32	0,23	0,18	0,53	0,44	0,46
K69Q	0,01	-0,12	0,02	0,03	0,01	0,01	-0,06	0,05	-0,04	0,06	0,05	0,04	-0,11	-0,12	-0,08	0,11	0,36	0,28	0,40
K69R	-0,03	-0,01	-0,04	0,00	0,03	-0,01	-0,07	0,00	-0,02	0,01	0,03	0,04	0,05	0,10	0,01	0,08	0,22	0,19	0,30
K69S	0,03	-0,33	-0,03	0,03	0,03	0,01	-0,02	-0,01	-0,02	0,07	0,02	-0,08	0,13	0,03	-0,06	0,09	0,29	0,17	0,28
K69T	0,03	-0,22	-0,02	0,04	0,08	0,02	0,07	0,05	0,05	0,03	0,04	-0,01	0,27	0,11	-0,01	0,10	0,33	0,23	0,30
K69V	0,16	0,08	-0,03	0,09	0,09	0,03	0,10	0,06	0,09	0,25	0,20	0,28	-0,01	0,12	0,06	0,15	0,52	0,40	0,40
K69W	0,62	-0,45	-1,11	-0,66	-0,12	-0,42	-0,29	-0,29	-0,28	0,13	-0,47	-0,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09
K69Y	0,15	0,58	-0,01	0,08	0,10	0,12	0,02	0,08	0,15	0,29	0,29	0,36	-0,09	0,19	0,08	0,18	0,60	0,48	0,46
K70A	-0,23	-0,56	-0,02	-0,11	-0,14	-0,15	-0,02	-0,06	-0,25	-0,17	-0,16	-0,23	-0,56	-0,73	-0,33	0,07	0,21	0,15	0,31
K70C	-0,19	-0,49	-0,03	-0,04	-0,13	-0,16	0,08	-0,06	-0,24	0,02	-0,16	-0,12	-0,35	-0,67	-0,29	0,10	0,33	0,28	0,33
K70D	-1,48	-0,47	-0,06	-0,45	-0,49	-0,39	-0,07	-0,45	-0,84	-1,05	-0,94	-0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
K70E	-0,63	-0,49	-0,03	-0,30	-0,31	-0,27	0,01	-0,15	-0,30	-0,53	-0,62	-0,60	-1,02	-0,70	-0,28	0,13	0,53	0,45	0,49
K70F	0,18	-0,42	0,01	0,04	0,03	-0,03	0,07	0,14	0,02	0,37	0,27	0,21	-0,02	-0,58	-0,25	0,13	0,60	0,48	0,48
K70G	-0,28	-0,49	-0,03	-0,10	-0,16	-0,19	0,02	0,01	-0,23	0,00	-0,07	-0,12	-0,49	-0,68	-0,29	0,14	0,48	0,35	0,43
K70H	-0,09	-0,49	-0,03	-0,03	-0,04	-0,06	0,00	0,03	-0,14	-0,11	-0,08	-0,04	-0,13	-0,66	-0,28	0,08	0,22	0,16	0,34
K70I	-1,37	-0,47	-0,05	-0,37	-0,42	-0,36	0,00	-0,35	-0,75	-0,62	-0,48	-0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16
K70L	-0,18	-0,51	-0,02	-0,05	-0,14	-0,17	0,07	0,00	-0,18	0,31	0,12	0,03	-0,18	-0,62	-0,29	0,11	0,39	0,28	0,34
K70M	-1,27	-0,49	-0,07	-0,33	-0,39	-0,33	0,07	-0,37	-0,83	-0,14	-0,25	-0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17
K70N	0,03	-0,46	-0,03	0,02	-0,04	-0,09	0,09	0,11	-0,09	0,27	0,06	0,11	-0,09	-0,64	-0,29	0,14	0,43	0,38	0,44
K70P	-0,64	-0,59	-0,03	-0,24	-0,30	-0,28	-0,12	-0,45	-0,30	-0,60	-0,68	-0,65	-0,49	-0,54	-0,16	0,01	0,01	0,01	0,10
K70Q	-0,33	-0,56	-0,06	-0,11	-0,19	-0,22	-0,03	-0,19	-0,28	-0,10	-0,08	-0,33	-0,28	-0,64	-0,25	0,07	0,14	0,11	0,26
K70R	-0,35	-0,50	-0,03	-0,09	-0,11	-0,10	0,00	-0,06	-0,15	0,05	-0,10	-0,14	-0,42	-0,66	-0,29	0,07	0,19	0,14	0,33
K70S	-0,18	-0,52	-0,04	-0,04	-0,13	-0,16	0,05	-0,02	-0,23	-0,07	-0,09	-0,09	-0,31	-0,64	-0,27	0,10	0,34	0,27	0,33
K70T	-0,08	-0,53	-0,03	-0,02	-0,09	-0,15	0,05	0,06	-0,19	0,05	0,02	0,01	-0,21	-0,64	-0,29	0,17	0,48	0,38	0,40
K70V	-0,05	-0,51	-0,02	-0,05	-0,09	-0,15	0,10	0,08	-0,18	0,21	0,18	0,05	-0,11	-0,64	-0,29	0,16	0,54	0,41	0,46
K70W	0,04	-0,42	-0,01	-0,02	0,00	-0,11	0,05	0,19	-0,07	0,48	0,22	0,10	0,24	-0,58	-0,25	0,16	0,44	0,36	0,40
K70Y	-0,01	-0,40	-0,01	0,02	-0,02	0,00	0,11	0,06	-0,08	0,09	-0,05	0,08	0,01	-0,49	-0,24	0,15	0,44	0,33	0,46
V71A	-0,12	0,38	0,11	-0,06	-0,04	-0,02	-0,05	0,06	0,08	-0,11	0,04	-0,04	-0,31	-0,11	0,04	0,23	0,53	0,50	0,55
V71C	-0,20	-0,21	0,00	0,06	0,09	0,10	0,05	0,08	0,03	0,21	0,05	0,21	-0,35	0,08	0,10	0,23	0,52	0,49	0,50
V71D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
V71E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,05
V71F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,06	0,06	0,09
V71G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,06
V71H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,04
V71I	-0,09	-0,19	-0,01	-0,07	-0,07	-0,06	-0,07	-0,03	-0,06	-0,31	-0,20	-0,18	0,46	-0,17	-0,13	0,11	0,34	0,27	0,39
V71K	-0,27	0,03	0,06	-0,28	-0,29	-0,27	-0,31	-0,31	-0,28	-0,59	-0,68	-0,91	0,35	-0,44	-0,21	0,01	0,04	0,04	0,12
V71L	-0,10	0,02	0,01	-0,02	-0,04	0,01	-0,09	0,03	0,01	-0,11	-0,05	-0,01	-0,19	-0,28	-0,17	0,19	0,55	0,45	0,56
V71M	-0,34	-0,18	0,01	-0,15	-0,17	-0,15	-0,10	-0,05	-0,03	-0,30	-0,35	-0,44	0,44	-0,41	-0,19	0,03	0,11	0,08	0,14
V71N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,04
V71P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,04
V71Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,04
V71R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,03
V71S	-0,34	0,05	0,04	-0,21	-0,21	-0,19	-0,16	-0,07	0,03	-0,59	-0,46	-0,60	0,10	-0,35	-0,09	0,02	0,06	0,06	0,11
V71T	-0,20	0,23	-0,01	-0,05	-0,08	-0,07	-0,03	0,01	-0,08	-0,27	-0,09	-0,25	0,88	-0,02	0,04	0,07	0,25	0,18	0,23
V71W	-0,21	0,18	0,07	-0,08	-0,25	-0,26	-0,10	-0,36	-0,26	-0,82	-0,73	-1,00	-0,25	-0,02	0,11	0,01	0,02	0,02	0,15
V71Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,05
D72A	-0,40	-0,85	-0,04	-0,24	-0,30	-0,29	0,05	-0,10	-0,30	-0,33	-0,22	-0,28	-0,73	-0,85	-0,35	0,05	0,18	0,16	0,21
D72C	-0,31	-0,70	-0,04	-0,17	-0,23	-0,12	0,04	0,23	-0,17	-0,20	-0,16	-0,14	-0,49	-0,84	-0,36	0,07	0,19	0,15	0,31
D72E	-0,06	-0,20	-0,01	-0,16	-0,14	-0,11	0,14	0,10	-0,10	-0,16	-0,04	-0,13	0,09	-0,67	-0,29	0,09	0,24	0,19	0,33
D72F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,05
D72G	-0,22	-0,80	-0,03	-0,21	-0,26	-0,26	0,07	-0,07	-0,30	-0,28	-0,23	-0,30	-0,52	-0,82	-0,30	0,06	0,20	0,05	0,24
D72H	-0,19	-0,83	-0,05	-0,18	-0,22	-0,25	0,12	-0,01	-0,26	-0,30	-0,19	-0,22	-0,58	-0,90	-0,38	0,08	0,24	0,19	0,29
D72I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
D72K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,06
D72L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,05
D72M	-0,67	-0,78	-0,05	-0,31	-0,37	-0,34	-0,10	-0,22	-0,37	-0,78	-0,69	-0,70	-0,84	-0,82	-0,31	0,04	0,05	0,05	0,12
D72N	-0,01	-0,71	-0,03	-0,05	-0,07	-0,04	0,11	0,05	-0,05	0,02	0,05	0,01	0,10	-0,62	-0,29	0,12	0,39	0,31	0,40
D72P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,04
D72Q	-0,41	-0,85	-0,06	-0,28	-0,35	-0,32	0,02	-0,16	-0,33	-0,46	-0,45	-0,52	-0,86	-0,85	-0,33	0,04	0,11	0,10	0,19
D72R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,05
D72S	-0,12	-0,75	-0,04	-0,11	-0,13	-0,14	0,12	0,14	-0,15	0,02	0,04	0,05	-0,12	-0,75	-0,28	0,13	0,35	0,34	0,42
D72T	-0,65	-0,86	-0,04	-0,36	-0,36	-0,33	-0,13	-0,33	-0,42	-0,78	-0,71	-0,72	-0,88	-0,86	-0,34	0,03	0,09	0,08	0,25
D72V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
D72W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
D72Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,07
I73A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,04	0,06
I73C	-0,48	-0,53	-0,11	-0,20	-0,24	-0,12	-0,39	-0,33	-0,43	-0,38	-0,37	-0,48	0,21	-0,06	-0,05	0,00	0,03	0,02	0,11
I73D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,04
I73E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,01	0,04
I73F	0,03	0,16	0,06	-0,01	-0,09	0,02	0,07	0,21	0,05	0,25	0,40	0,07	0,14	0,00	-0,08	0,02	0,05	0,08	0,23
I73G	-0,42	-0,60	-0,03	0,01	-0,24	-0,02	-0,19	-0,33	-0,20	-0,44	-0,43	-0,48	0,08	-0,06	-0,10	0,01	0,04	0,01	0,14
I73H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,03	0,01	0,05
I73K	0,00	0,02	0,01	-0,05	-0,12	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,06	0,11	-0,11	-0,11	-0,19	-0,12	0,03	0,05	0,09	0,13
I73L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,05
I73M	0,32	0,58	0,19	0,08	0,07	0,08	0,16	0,23	0,19	0,33	0,26	0,20	0,13	-0,03	-0,03	0,05	0,09	0,24	0,25
I73N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,03	0,03	0,08
I73P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,01	0,04
I73Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,04
I73R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,05
I73S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,06
I73T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,05	0,09
I73V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,01	0,04
I73W	-0,38	-0,52	-0,07	-0,20	-0,24	-0,10	-0,22	-0,33	-0,40	-0,35	-0,40	-0,47	0,01	-0,08	-0,05	0,00	0,02	0,01	0,11
I73Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	0,02	0,09
V74A	-0,01	0,02	0,03	-0,04	0,01	0,02	0,03	0,04	-0,03	-0,05	-0,05	-0,02	-0,14	-0,07	-0,10	0,02	0,05	0,08	0,17
V74C	0,45	0,59	0,28	0,07	0,15	0,16	0,25	0,19	0,20	0,58	0,31	0,49	0,15	0,26	0,11	0,11	0,16	0,32	0,44
V74D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,05
V74E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,02	-0,01	0,04
V74F	-0,57	-0,55	-0,05	-0,16	-0,15	-0,15	-0,32	-0,34	-0,46	-0,50	-0,47	-0,41	-0,62	-0,48	-0,37	0,00	0,02	0,01	0,10
V74G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,02	0,00	0,04
V74H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,01	-0,01	0,04
V74I	0,28	0,18	-0,01	0,04	0,10	0,09	0,05	0,09	-0,07	0,30	0,23	0,16	0,02	-0,04	-0,07	0,07	0,10	0,19	0,35
V74K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,00	0,04
V74L	0,32	-0,14	0,01	0,05	0,09	0,08	0,12	0,10	0,06	0,27	0,19	0,16	0,03	0,02	-0,01	0,08	0,11	0,20	0,25
V74M	0,31	-0,16	-0,01	-0,03	0,01	0,00	0,07	0,12	-0,13	0,34	0,22	0,19	-0,09	-0,13	-0,11	0,10	0,19	0,33	0,51
V74N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,02	-0,01	0,04
V74P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,02	-0,01	0,04

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
V74Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	0,00	0,04
V74R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,01	-0,01	0,04
V74S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,02	-0,01	0,04
V74T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,10
V74W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	-0,01	0,05
V74Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,00	0,05
A75C	-0,12	-1,04	-0,13	-0,09	-0,09	-0,11	-0,07	-0,07	-0,10	0,01	-0,17	-0,17	0,66	-0,88	-0,64	0,26	0,35	0,01	0,33
A75D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,06
A75E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	-0,01	0,05
A75F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	-0,01	0,05
A75G	-0,02	-0,74	-0,13	-0,06	-0,07	-0,03	-0,07	-0,06	-0,06	0,05	-0,10	0,00	0,09	-0,60	-0,55	0,26	0,34	0,00	0,38
A75H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	0,00	-0,02	0,04
A75I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,05
A75K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
A75L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	-0,02	0,05
A75M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,08
A75N	-0,41	-1,10	-0,15	-0,23	-0,30	-0,28	-0,09	-0,15	-0,32	-0,18	-0,37	-0,30	0,25	-0,96	-0,71	0,25	0,34	0,01	0,45
A75P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,09
A75Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
A75R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,06
A75S	-0,16	-0,96	-0,12	-0,10	-0,10	-0,09	-0,04	-0,07	-0,01	-0,08	-0,40	-0,21	0,50	-0,62	-0,59	0,22	0,35	0,01	0,31
A75T	-0,48	-1,11	-0,17	-0,26	-0,33	-0,29	-0,01	-0,16	-0,25	-0,31	-0,45	-0,36	0,67	-0,88	-0,57	0,13	0,25	0,04	0,23
A75V	-1,00	-1,16	-0,18	-0,47	-0,43	-0,37	-0,33	-0,47	-0,57	-1,18	-1,16	-1,07	-0,64	-0,85	-0,62	0,01	0,03	0,04	0,16
A75W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
A75Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
H76A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
H76C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
H76D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,08
H76E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,07
H76F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,08
H76G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,03	0,00	0,07
H76I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,05
H76K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
H76L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
H76M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,04	0,07
H76N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,06
H76P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,05
H76Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
H76R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,04	0,05
H76S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,09
H76T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
H76V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,06
H76W	-1,69	-1,19	-0,05	-0,38	-0,42	-0,42	-0,49	-0,58	-0,67	-1,32	-1,40	-1,22	-0,97	-0,72	-0,16	0,01	0,01	0,01	0,11
H76Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
S77A	-1,88	-1,08	-0,06	-0,43	-0,46	-0,42	-0,44	-0,43	-0,43	-1,37	-1,67	-1,58	0,13	0,02	0,16	0,00	0,02	0,02	0,11
S77C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
S77D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,08
S77E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,05
S77F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,04
S77G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
S77H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
S77I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,06	0,06
S77K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
S77L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,04
S77M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
S77N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,06
S77P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,05
S77Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,04
S77R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
S77T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
S77V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
S77W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
S77Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
M78A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M78C	-0,72	-0,56	0,02	-0,08	-0,24	-0,19	-0,50	-0,25	-0,27	0,15	0,28	0,40	0,00	0,00	0,00	0,06	0,19	0,17	0,10
M78D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
M78E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,08
M78F	-1,14	-1,11	-0,04	-0,21	-0,19	-0,22	-0,15	-0,28	-0,23	-0,74	-0,83	-0,67	-0,30	-0,62	-0,34	0,02	0,06	0,06	0,13
M78G	-1,31	-1,40	-0,05	-0,34	-0,34	-0,36	-0,10	-0,28	-0,16	-0,75	-0,74	-0,91	-0,86	-0,77	-0,38	0,03	0,03	0,03	0,23
M78H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,09
M78I	-0,94	-1,25	-0,04	-0,30	-0,33	-0,31	-0,18	-0,32	-0,26	-0,42	-0,55	-0,75	-0,04	-0,48	-0,32	0,03	0,08	0,09	0,17
M78K	-1,02	-1,25	-0,05	-0,23	-0,25	-0,24	0,00	-0,07	-0,23	-0,43	-0,30	-0,88	-0,39	-0,76	-0,42	0,07	0,14	0,12	0,38
M78L	-1,07	-1,20	-0,05	-0,24	-0,22	-0,24	-0,15	-0,25	-0,15	-0,69	-0,59	-0,56	-0,19	-0,54	-0,30	0,03	0,05	0,05	0,13
M78N	-1,57	-1,40	-0,02	-0,30	-0,30	-0,33	-0,10	-0,33	-0,40	-1,21	-1,18	-1,03	-0,43	-0,52	-0,32	0,02	0,06	0,06	0,12
M78P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,06
M78Q	-1,08	-1,35	-0,06	-0,28	-0,31	-0,29	-0,08	-0,21	-0,21	-0,97	-0,96	-1,07	-0,46	-0,73	-0,54	0,04	0,10	0,10	0,23
M78R	-1,34	-1,32	-0,06	-0,37	-0,38	-0,38	-0,19	-0,31	-0,42	-0,99	-0,93	-1,15	-0,64	-0,68	-0,16	0,01	0,04	0,04	0,20
M78S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,09
M78T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,05
M78V	-1,31	-1,06	-0,01	-0,30	-0,25	-0,31	-0,25	-0,30	-0,26	-0,96	-0,98	-0,92	-0,19	-0,45	-0,45	0,03	0,07	0,06	0,11
M78W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,03	0,02	0,02
M78Y	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
G79A	-1,09	-1,29	-0,03	-0,22	-0,28	-0,27	-0,08	-0,18	-0,38	-0,93	-0,94	-0,74	-0,19	-0,77	-0,21	0,09	0,20	0,19	0,31
G79C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,07
G79D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
G79E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
G79F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,06
G79H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
G79I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
G79K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,07
G79L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
G79M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,06
G79N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
G79P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,07
G79Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,03	0,05
G79R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
G79S	-1,81	-1,42	-0,08	-0,44	-0,44	-0,39	-0,44	-0,72	-0,62	-1,86	-1,95	-1,25	-0,81	-0,72	-0,54	0,03	0,14	0,13	0,18
G79T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
G79V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
G79W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
G79Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
G80A	-0,20	-0,87	-0,09	-0,10	-0,11	-0,12	-0,08	-0,20	-0,27	-0,32	-0,24	-0,29	0,15	-0,47	-0,21	0,11	0,31	0,32	0,38
G80C	-1,00	-1,17	-0,10	-0,20	-0,30	-0,30	0,21	0,00	-0,30	0,32	0,01	-0,05	-0,46	-0,73	-0,26	0,15	0,46	0,38	0,51
G80D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
G80E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
G80F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,09
G80H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
G80I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
G80K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,07
G80L	-1,28	-1,19	-0,10	-0,36	-0,32	-0,29	-0,17	-0,70	-0,71	-1,27	-1,28	-0,96	-0,75	-0,89	-0,51	0,01	0,02	0,01	0,14
G80M	-1,12	-0,64	0,00	-0,41	-0,56	-0,52	-0,65	-0,61	-0,53	0,09	0,08	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
G80N	-1,03	-1,19	-0,10	-0,35	-0,30	-0,31	-0,54	-0,86	-0,94	-1,30	-1,31	-0,94	-0,35	-0,57	-0,32	0,00	0,00	0,00	0,10
G80P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
G80Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,00	0,09
G80R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	-0,01	0,06
G80S	-0,42	-1,10	-0,09	-0,12	-0,14	-0,15	-0,06	-0,17	-0,34	-0,38	-0,23	-0,36	-0,04	-0,69	-0,26	0,09	0,31	0,33	0,40
G80T	-1,16	-1,15	-0,11	-0,32	-0,33	-0,29	-0,25	-0,69	-0,88	-1,07	-1,04	-0,95	-0,82	-0,77	-0,31	0,06	0,23	0,19	0,31
G80V	-1,11	-1,08	-0,08	-0,34	-0,35	-0,28	-0,19	-0,45	-0,47	-1,22	-1,25	-0,98	-0,83	-0,70	-0,26	0,02	0,04	0,03	0,19
G80W	-1,32	-1,19	-0,09	-0,39	-0,34	-0,29	-0,21	-0,58	-0,70	-1,30	-1,34	-0,98	-0,84	-0,59	0,01	0,01	0,01	0,00	0,14
G80Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
A81C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
A81D	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A81E	-1,40	-1,35	-0,10	-0,33	-0,40	-0,35	-0,42	-0,60	-0,62	-0,73	-0,92	-0,92	-1,10	-0,70	-0,21	0,06	0,28	0,20	0,31
A81F	-0,98	-0,28	-0,04	0,39	0,42	0,86	-0,05	-0,04	0,01	-0,06	0,40	0,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16
A81G	-0,32	-0,96	-0,07	-0,06	-0,10	-0,08	-0,08	0,02	-0,09	-0,21	-0,26	-0,22	-0,12	-0,60	-0,21	0,14	0,45	0,39	0,43
A81H	-0,56	-1,27	-0,09	-0,28	-0,37	-0,33	0,12	0,08	-0,19	0,58	0,25	0,14	-0,92	-0,66	-0,21	0,08	0,32	0,28	0,31
A81I	-1,42	-0,31	-0,05	-0,42	-0,46	-0,38	-0,57	-0,44	-0,41	-0,56	-0,85	-0,39	0,00	0,00	0,00	0,01	0,03	0,02	0,19
A81K	-0,13	-0,78	-0,05	-0,17	-0,22	-0,25	0,22	0,14	0,00	0,54	0,30	-0,32	-0,69	-0,73	-0,22	0,17	0,40	0,36	0,60
A81L	-1,22	-1,36	-0,11	-0,41	-0,42	-0,34	-0,35	-0,58	-0,66	-1,16	-1,31	-1,05	-1,13	-0,84	-0,28	0,02	0,06	0,04	0,18
A81M	-0,83	-1,17	-0,08	-0,19	-0,23	-0,25	-0,08	0,00	-0,22	0,11	-0,10	0,43	-0,79	-0,58	-0,13	0,08	0,23	0,23	0,30
A81N	0,31	-0,21	-0,06	-0,03	-0,12	-0,17	0,00	0,09	0,06	0,23	0,20	-0,06	-0,31	-0,63	-0,20	0,14	0,46	0,41	0,54
A81P	-0,08	-0,91	0,03	-0,03	-0,07	-0,07	-0,13	0,01	0,13	-0,13	-0,39	-0,27	0,12	-0,28	-0,16	0,13	0,37	0,33	0,34
A81Q	-1,14	-0,66	-0,01	-0,46	-0,59	-0,52	0,01	-0,17	-0,10	0,30	0,14	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
A81R	-0,64	-1,16	-0,05	-0,31	-0,35	-0,33	0,06	-0,05	-0,15	0,58	0,18	-0,29	-0,78	-0,69	-0,15	0,09	0,25	0,27	0,36
A81S	0,02	-0,66	-0,06	-0,01	-0,07	-0,09	0,01	0,05	0,03	0,24	0,07	0,17	0,07	-0,55	-0,21	0,15	0,47	0,42	0,47
A81T	-0,37	-1,22	-0,09	-0,22	-0,29	-0,28	-0,09	-0,04	-0,09	0,08	-0,13	-0,08	-0,68	-0,69	-0,21	0,11	0,29	0,29	0,35
A81V	-1,18	-1,30	-0,09	-0,39	-0,40	-0,34	-0,15	-0,36	-0,57	-0,44	-0,77	-0,88	-1,07	-0,71	-0,28	0,04	0,14	0,14	0,27
A81W	-0,45	-1,22	-0,10	-0,11	-0,25	-0,28	0,19	0,25	-0,13	-0,01	0,02	-0,03	-0,35	-0,69	-0,19	0,10	0,26	0,34	0,33
A81Y	-0,87	-1,23	-0,09	-0,29	-0,35	-0,31	0,19	0,04	-0,14	1,44	0,97	0,64	-1,02	-0,69	-0,18	0,08	0,26	0,25	0,40
N82A	-0,30	-1,12	-0,15	-0,14	-0,12	-0,15	-0,03	-0,34	-0,31	-0,34	-0,14	-0,25	-0,42	-0,63	-0,16	0,05	0,15	0,14	0,29
N82C	0,10	-0,95	-0,14	0,00	0,02	0,15	-0,24	-0,39	-0,35	-0,19	0,08	0,10	-0,65	-0,64	-0,25	0,05	0,12	0,12	0,44
N82D	-0,04	-0,49	-0,06	0,22	0,34	0,76	-0,05	-0,21	-0,05	0,39	0,91	0,81	-0,30	-0,52	-0,17	0,08	0,26	0,25	0,34
N82E	-0,25	-0,64	-0,09	0,18	0,31	0,78	-0,09	-0,29	-0,15	1,01	1,16	1,05	-0,35	-0,39	0,08	0,08	0,25	0,23	0,25
N82F	-0,65	-1,13	-0,17	-0,04	-0,04	-0,06	0,11	-0,38	-0,34	-0,32	-0,09	-0,19	-0,22	-0,66	-0,23	0,01	0,03	0,03	0,11
N82G	-0,41	-1,07	-0,17	-0,19	-0,16	-0,14	-0,10	-0,39	-0,34	-0,37	-0,25	-0,28	-0,47	-0,71	-0,25	0,03	0,12	0,05	0,26
N82H	0,10	-0,88	-0,16	0,04	0,02	0,09	0,02	-0,09	-0,08	0,01	0,11	0,05	0,13	-0,28	-0,11	0,06	0,19	0,19	0,26
N82I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
N82K	0,16	-1,03	-0,17	-0,08	-0,05	0,00	-0,26	-0,46	-0,38	1,14	0,91	0,60	-0,50	-0,45	-0,04	0,02	0,07	0,08	0,18
N82L	-0,32	-1,11	-0,17	-0,06	-0,08	-0,13	0,00	-0,19	-0,15	-0,27	-0,14	-0,31	-0,19	-0,46	-0,07	0,04	0,17	0,15	0,26
N82M	-1,01	-0,47	-0,10	-0,13	-0,23	-0,23	0,11	-0,21	-0,21	0,01	-0,04	0,08	0,63	-0,56	-0,44	0,00	0,00	0,00	0,20
N82P	-0,83	-1,14	-0,17	-0,31	-0,26	-0,29	0,06	-0,42	-0,37	-0,84	-0,53	-0,71	-0,83	-0,26	0,04	0,03	0,10	0,07	0,15
N82Q	-0,31	-1,14	-0,17	-0,02	-0,03	-0,11	0,00	-0,26	-0,19	0,32	0,19	0,22	-0,12	-0,67	-0,28	0,04	0,17	0,16	0,24
N82R	0,36	-0,93	-0,14	0,09	0,10	0,11	-0,25	-0,49	-0,40	1,29	1,70	1,48	-0,39	-0,55	-0,16	0,02	0,06	0,06	0,14
N82S	-0,10	-1,02	-0,17	-0,06	-0,05	-0,07	-0,12	-0,27	-0,26	-0,14	0,00	-0,10	-0,26	-0,40	-0,03	0,04	0,12	0,12	0,25
N82T	-0,16	-0,77	-0,16	-0,08	-0,06	-0,08	0,05	-0,13	-0,01	-0,22	-0,13	-0,20	-0,37	-0,53	-0,21	0,02	0,09	0,09	0,21
N82V	-0,22	-1,10	-0,17	-0,05	-0,08	-0,12	0,02	-0,20	-0,12	-0,13	-0,05	-0,18	-0,38	-0,73	-0,35	0,04	0,10	0,10	0,20
N82W	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07
N82Y	0,00	-0,67	-0,16	0,14	0,17	0,15	-0,06	-0,18	-0,07	0,13	0,21	0,22	0,42	0,20	0,15	0,06	0,22	0,21	0,19
T83A	0,29	-0,03	-0,02	0,02	-0,03	0,00	0,13	0,14	0,15	0,95	0,69	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07
T83C	0,02	-0,36	-0,05	-0,12	-0,13	-0,10	0,01	0,08	0,14	-0,23	-0,31	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09
T83D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
T83E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
T83F	-0,84	-1,02	0,02	-0,17	-0,16	-0,17	-0,11	-0,21	-0,25	-0,76	-0,46	-0,39	-0,19	-0,66	-0,21	0,05	0,16	0,17	0,26
T83G	-0,08	0,03	0,02	0,00	-0,02	-0,02	-0,05	-0,07	0,00	0,00	0,01	-0,07	-0,08	-0,20	-0,10	0,11	0,31	0,29	0,42
T83H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,08
T83I	-0,44	-0,27	-0,03	-0,07	-0,16	-0,01	0,16	0,15	0,22	-0,11	-0,23	-0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09
T83K	0,18	0,12	0,00	0,03	0,04	0,05	0,03	0,37	-0,02	0,20	0,11	0,34	0,06	-0,14	-0,19	0,11	0,23	0,23	0,33
T83L	-0,23	-0,89	-0,05	-0,07	-0,09	-0,10	-0,03	-0,08	-0,06	-0,34	-0,16	-0,33	0,01	-0,41	-0,17	0,06	0,19	0,20	0,29
T83M	-0,06	-0,60	-0,05	-0,07	-0,05	-0,05	-0,03	-0,09	0,04	-0,35	-0,19	-0,11	0,14	-0,26	-0,13	0,06	0,16	0,15	0,25
T83N	-0,73	-0,95	-0,04	-0,17	-0,20	-0,20	-0,20	-0,32	-0,50	-0,68	-0,60	-0,63	-0,48	-0,89	-0,31	0,08	0,32	0,28	0,43
T83P	-1,60	-1,10	-0,06	-0,38	-0,40	-0,36	-0,66	-0,75	-0,71	-1,50	-1,08	-1,32	-0,08	-0,15	-0,12	0,00	0,00	0,00	0,10
T83Q	-1,15	-0,50	-0,09	-0,31	-0,37	-0,27	-0,01	-0,27	-0,67	-1,01	-0,63	-0,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
T83R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
T83S	-1,36	-0,46	-0,10	-0,34	-0,36	-0,23	-0,35	-0,47	-0,69	-0,91	-0,69	-0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37
T83V	-0,20	-0,50	-0,03	-0,03	-0,04	-0,04	-0,04	-0,05	-0,01	-0,34	-0,16	-0,04	0,04	-0,27	-0,12	0,09	0,24	0,24	0,30
T83W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,06
T83Y	-1,29	-1,10	-0,05	-0,33	-0,33	-0,31	-0,20	-0,37	-0,54	-1,33	-0,92	-0,87	-0,66	-0,95	-0,41	0,10	0,22	0,22	0,31
L84A	-1,37	-1,21	-0,06	-0,38	-0,36	-0,35	-0,21	-0,51	-0,70	-1,05	-0,92	-1,20	-0,87	-0,79	-0,37	0,07	0,23	0,18	0,28
L84C	-0,49	-1,12	-0,05	-0,12	-0,17	-0,25	0,23	-0,02	-0,19	0,06	0,05	-0,11	-0,15	-0,81	-0,40	0,20	0,48	0,44	0,48
L84D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
L84E	-1,31	-0,95	-0,07	-0,41	-0,38	-0,33	-0,51	-0,58	-0,59	-1,17	-0,96	-1,13	-0,95	-0,82	-0,34	0,01	0,03	0,04	0,10
L84F	-1,23	-1,13	-0,06	-0,36	-0,35	-0,34	-0,17	-0,41	-0,67	-0,76	-0,66	-0,93	-0,92	-0,82	-0,40	0,08	0,33	0,24	0,32
L84G	-1,28	-1,15	-0,05	-0,38	-0,35	-0,34	-0,23	-0,47	-0,64	-1,10	-0,89	-1,16	-0,84	-0,79	-0,38	0,06	0,20	0,14	0,27
L84H	-1,25	-1,08	-0,04	-0,36	-0,35	-0,35	-0,14	-0,57	-0,67	-0,92	-0,90	-1,19	-0,89	-0,81	-0,39	0,06	0,32	0,21	0,42
L84I	-0,99	-1,19	-0,06	-0,22	-0,29	-0,33	-0,02	-0,12	-0,35	-0,18	-0,19	-0,53	-0,39	-0,79	-0,38	0,15	0,39	0,39	0,38
L84K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	-0,01	0,07
L84M	-0,10	-0,61	-0,03	0,01	-0,01	-0,04	0,03	0,07	-0,06	-0,04	0,05	0,11	0,26	-0,46	-0,30	0,16	0,47	0,37	0,50
L84N	-1,20	-1,16	-0,07	-0,40	-0,36	-0,36	-0,13	-0,49	-0,70	-1,04	-0,91	-1,23	-0,87	-0,78	-0,41	0,05	0,30	0,21	0,28
L84P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
L84Q	-1,20	-1,08	-0,06	-0,38	-0,36	-0,35	0,00	-0,38	-0,60	-0,55	-0,68	-1,02	-0,81	-0,78	-0,38	0,09	0,27	0,23	0,45
L84R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,08
L84S	-1,26	-1,08	-0,04	-0,39	-0,36	-0,33	-0,30	-0,53	-0,69	-1,02	-0,94	-1,23	-0,81	-0,77	-0,37	0,04	0,18	0,12	0,26
L84T	-1,20	-1,03	-0,06	-0,39	-0,35	-0,35	-0,11	-0,40	-0,66	-0,97	-0,85	-1,14	-0,92	-0,81	-0,38	0,07	0,29	0,21	0,26
L84V	-1,26	-1,16	-0,05	-0,37	-0,35	-0,35	-0,06	-0,36	-0,63	-0,76	-0,74	-1,05	-0,85	-0,80	-0,38	0,06	0,22	0,18	0,27
L84W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	-0,01	0,06
L84Y	-1,10	-0,99	-0,04	-0,41	-0,37	-0,33	-0,21	-0,45	-0,54	-0,82	-0,67	-0,92	-0,97	-0,84	-0,39	0,01	0,03	0,02	0,13
Y85A	0,17	-0,23	-0,05	0,03	0,01	0,04	0,12	0,03	-0,01	0,63	0,58	0,50	-0,25	-0,11	-0,26	0,22	0,52	0,47	0,59
Y85C	-0,18	-0,63	-0,10	-0,04	0,05	0,11	0,03	-0,11	-0,29	0,02	0,18	0,29	0,24	-0,64	-0,33	0,14	0,38	0,33	0,52
Y85D	-0,17	-0,67	-0,15	-0,09	-0,05	-0,03	0,11	-0,04	-0,27	-0,34	-0,14	0,01	0,53	-0,53	-0,37	0,17	0,47	0,40	0,46
Y85E	-0,74	-0,46	-0,09	-0,06	-0,06	0,12	-0,05	-0,13	-0,47	-0,64	-0,50	-0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
Y85F	-0,05	-0,37	-0,08	-0,01	0,00	-0,01	0,04	0,00	-0,05	0,10	0,07	-0,08	-0,33	-0,07	-0,07	0,19	0,51	0,48	0,59
Y85G	-0,27	-0,72	-0,13	-0,19	-0,18	-0,18	-0,12	-0,19	-0,39	-0,41	-0,32	-0,20	0,26	-0,61	-0,39	0,10	0,30	0,26	0,44
Y85H	-0,07	-0,30	-0,06	0,00	-0,01	0,01	0,11	-0,05	-0,09	0,11	0,01	0,02	-0,55	-0,14	0,12	0,25	0,58	0,54	0,77
Y85I	-0,74	-0,29	-0,10	0,03	-0,05	0,01	0,07	0,02	0,09	0,40	0,36	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
Y85K	-0,23	-0,60	-0,11	-0,32	-0,33	-0,28	0,03	-0,33	-0,53	1,55	1,41	0,91	0,89	-0,61	-0,34	0,13	0,30	0,27	0,33
Y85L	-0,13	-0,88	-0,13	-0,13	-0,13	-0,10	-0,06	-0,25	-0,44	0,13	0,15	0,17	0,36	-0,62	-0,39	0,12	0,36	0,32	0,44
Y85M	-0,89	-0,46	-0,09	-0,10	-0,18	-0,08	-0,01	-0,19	-0,59	-0,10	0,23	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22
Y85N	-0,08	-0,78	-0,11	-0,12	-0,11	-0,09	0,03	-0,13	-0,34	0,48	0,39	0,45	-0,14	-0,60	-0,37	0,19	0,55	0,53	0,66
Y85P	-1,21	-0,96	-0,15	-0,36	-0,36	-0,32	-0,54	-0,72	-0,70	-1,00	-0,98	-0,91	-0,01	-0,47	-0,28	0,01	0,00	0,02	0,10
Y85Q	-0,40	-0,44	-0,05	-0,07	-0,16	0,05	0,04	0,11	-0,29	1,61	1,36	1,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12
Y85R	-0,21	-0,63	-0,11	-0,32	-0,29	-0,21	0,03	-0,26	-0,46	1,53	1,11	1,27	0,25	-0,34	-0,25	0,19	0,43	0,43	0,46
Y85S	-0,05	-0,36	-0,08	0,01	0,03	0,04	0,08	-0,04	-0,09	0,34	0,38	0,37	-0,49	-0,24	-0,28	0,25	0,56	0,55	0,77
Y85T	-0,21	-0,76	-0,14	-0,19	-0,17	-0,15	-0,03	-0,12	-0,40	-0,21	-0,03	0,17	0,03	-0,73	-0,41	0,10	0,28	0,26	0,51
Y85V	-0,17	-0,72	-0,05	-0,11	-0,11	-0,08	0,03	-0,20	-0,33	0,44	0,39	0,22	0,05	-0,70	-0,41	0,15	0,44	0,39	0,53
Y85W	-0,33	-0,30	-0,01	-0,11	-0,06	-0,06	0,02	-0,02	-0,10	-0,11	-0,02	-0,10	-0,35	-0,20	0,07	0,28	0,64	0,49	0,83
Y86A	-0,57	-0,83	-0,11	-0,29	-0,25	-0,28	-0,08	-0,32	-0,47	-0,87	-1,17	-0,65	-0,13	-0,73	-0,35	0,04	0,09	0,09	0,19
Y86C	-0,19	-0,74	-0,11	-0,13	-0,11	-0,14	0,02	-0,15	-0,28	-0,12	-0,41	-0,13	0,15	-0,72	-0,34	0,06	0,16	0,17	0,22
Y86D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
Y86E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
Y86F	0,13	-0,42	-0,12	-0,02	-0,18	-0,15	0,00	-0,15	0,12	0,03	-0,14	-0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
Y86G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,05
Y86H	-0,54	-0,73	-0,11	-0,14	-0,13	-0,23	-0,13	-0,31	-0,25	-0,44	-0,74	-0,37	0,10	-0,55	-0,29	0,02	0,07	0,08	0,14
Y86I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,10	0,27	0,26	0,02
Y86K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,04
Y86L	-0,11	-0,48	-0,09	-0,01	-0,01	-0,04	0,00	-0,08	-0,18	-0,24	-0,50	-0,12	0,18	-0,44	-0,27	0,08	0,22	0,19	0,31
Y86M	-0,31	-0,70	-0,11	-0,11	-0,09	-0,11	0,07	-0,16	-0,28	-0,26	-0,51	-0,14	-0,24	-0,67	-0,33	0,04	0,11	0,10	0,29
Y86N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,07
Y86P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
Y86Q	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Y86R	-1,24	-0,74	-0,11	-0,14	-0,32	-0,28	-0,45	-0,66	-0,66	-1,04	-1,27	-0,73	0,40	-0,32	-0,18	0,01	0,02	0,02	0,13
Y86S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,06
Y86T	-0,66	-0,80	-0,11	-0,24	-0,21	-0,27	-0,09	-0,32	-0,44	-0,52	-0,90	-0,46	-0,13	-0,69	-0,33	0,04	0,08	0,09	0,18
Y86V	0,07	-0,46	-0,07	0,04	0,04	0,01	0,03	-0,05	-0,19	0,15	0,02	0,13	0,29	-0,46	-0,27	0,14	0,35	0,30	0,36
Y86W	-0,03	-0,32	-0,05	0,00	-0,05	-0,02	0,15	-0,08	-0,08	-0,11	-0,25	-0,07	-0,03	-0,33	-0,16	0,07	0,16	0,14	0,33
I87A	-0,63	-0,75	-0,10	-0,21	-0,26	-0,21	-0,08	-0,14	-0,44	-0,73	-0,89	-0,63	-0,23	-0,65	-0,33	0,07	0,21	0,20	0,27
I87C	-0,38	-0,73	-0,11	-0,17	-0,26	-0,21	0,12	0,10	-0,24	-0,15	-0,62	-0,39	0,23	-0,61	-0,35	0,24	0,43	0,51	0,52
I87D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
I87E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,05	0,04	0,09
I87F	-0,31	-0,59	-0,11	-0,10	-0,14	-0,14	-0,11	0,03	-0,24	-0,47	-0,48	-0,34	0,38	-0,61	-0,36	0,08	0,25	0,23	0,25
I87G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,01	0,06
I87H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
I87K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
I87L	0,28	-0,73	-0,11	0,09	0,03	0,03	0,07	0,24	0,03	0,35	0,55	0,22	0,60	-0,60	-0,33	0,11	0,28	0,24	0,35
I87M	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,38	0,31	0,44
I87N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
I87P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,05
I87Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
I87R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,05
I87S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,04	0,07
I87T	-0,69	-0,77	-0,12	-0,23	-0,28	-0,22	-0,08	-0,25	-0,51	-0,83	-0,95	-0,67	-0,33	-0,63	-0,33	0,07	0,21	0,18	0,23
I87V	0,13	-0,62	-0,10	0,07	0,00	0,02	0,00	0,17	-0,08	0,23	0,40	0,16	0,70	-0,41	-0,28	0,08	0,18	0,17	0,27
I87W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,04
I87Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
K88A	0,16	-0,13	-0,01	0,10	0,09	0,08	0,04	0,12	0,12	0,05	-0,31	0,10	0,18	0,18	0,03	0,12	0,42	0,33	0,36
K88C	0,24	-0,07	0,04	0,08	0,12	0,10	0,20	0,10	0,28	-0,15	-0,57	-0,07	0,24	-0,24	-0,14	0,08	0,31	0,25	0,33
K88D	-0,07	-0,44	-0,05	0,17	0,11	0,06	0,12	0,14	0,13	-0,09	-0,57	0,03	-0,54	-0,54	-0,21	0,18	0,50	0,41	0,48
K88E	-0,10	-0,42	-0,04	0,17	0,10	0,09	0,13	0,15	0,10	-0,19	-0,57	-0,04	-0,23	-0,17	-0,16	0,20	0,54	0,43	0,47
K88F	-0,08	-0,42	-0,04	0,00	-0,03	-0,06	0,03	-0,03	0,11	-0,05	-0,48	-0,12	-0,56	-0,61	-0,22	0,06	0,22	0,17	0,29
K88G	0,10	0,16	0,09	0,10	0,14	0,13	0,19	0,13	0,31	0,07	-0,29	0,09	-0,10	0,61	0,72	0,11	0,46	0,00	0,41
K88H	0,12	-0,41	-0,03	0,13	0,09	0,06	0,06	0,10	0,04	0,07	-0,26	0,12	0,13	-0,58	-0,20	0,10	0,38	0,31	0,38
K88I	-0,21	-0,46	-0,05	-0,06	-0,11	-0,14	0,05	-0,06	-0,05	-0,31	-0,70	-0,19	-0,63	-0,64	-0,26	0,05	0,20	0,14	0,23
K88L	0,10	0,08	0,01	0,04	0,06	0,05	0,03	0,03	0,20	-0,03	-0,60	-0,04	0,39	-0,24	-0,16	0,06	0,25	0,23	0,29
K88M	-0,01	0,28	0,06	-0,06	0,01	-0,02	0,13	-0,05	0,00	-0,29	-0,82	-0,22	0,20	-0,13	-0,08	0,07	0,25	0,18	0,29
K88N	0,13	-0,43	-0,02	0,09	0,09	0,03	0,03	0,12	-0,03	-0,05	-0,40	-0,01	0,05	-0,53	-0,19	0,11	0,38	0,29	0,33
K88P	-0,83	-0,36	0,00	-0,26	-0,28	-0,23	-0,44	-0,51	-0,52	-0,88	-1,32	-0,84	-0,40	-0,52	-0,24	0,00	0,00	0,02	0,10
K88Q	0,45	0,17	-0,02	0,17	0,13	0,16	0,07	0,12	0,20	-0,07	-0,42	0,05	0,68	0,37	0,01	0,09	0,29	0,23	0,31
K88R	0,24	-0,42	-0,08	-0,05	-0,14	-0,10	-0,07	0,05	0,01	0,51	0,03	0,34	0,28	-0,40	-0,35	0,00	0,00	0,00	0,25
K88S	0,19	-0,39	-0,04	0,09	0,10	0,09	0,12	0,16	0,15	0,11	-0,36	0,06	-0,11	-0,34	-0,17	0,12	0,38	0,31	0,38
K88T	-0,45	-0,47	-0,03	-0,11	-0,20	-0,21	0,02	-0,02	-0,19	-0,15	-0,57	-0,21	-0,32	-0,62	-0,23	0,08	0,27	0,22	0,30
K88V	-0,18	-0,45	-0,02	-0,04	-0,10	-0,17	0,05	0,00	-0,06	-0,13	-0,56	-0,10	0,10	-0,60	-0,23	0,09	0,32	0,27	0,30
K88W	-0,21	-0,18	-0,06	-0,02	-0,08	-0,02	0,04	0,11	0,21	0,43	0,05	-0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29
K88Y	0,10	-0,46	-0,05	0,03	0,00	-0,07	0,07	0,09	0,01	-0,10	-0,47	-0,05	-0,35	-0,62	-0,23	0,09	0,32	0,22	0,30
N89A	-0,23	-0,16	-0,02	-0,03	-0,07	-0,05	-0,01	0,02	0,05	-0,10	-0,22	-0,02	-0,03	-0,28	-0,20	0,11	0,38	0,30	0,47
N89C	0,05	-0,08	0,04	0,08	0,03	0,28	-0,30	-0,28	-0,17	0,00	0,16	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
N89D	-0,27	0,13	0,18	-0,06	-0,02	0,00	-0,05	-0,03	-0,08	-0,29	-0,36	-0,27	0,00	0,23	0,28	0,12	0,44	0,32	0,49
N89E	-0,28	-0,32	-0,05	-0,13	-0,09	-0,08	-0,04	-0,11	-0,12	-0,55	-0,74	-0,57	0,50	-0,01	-0,04	0,06	0,20	0,18	0,31
N89F	-0,39	-0,48	-0,07	-0,13	-0,10	-0,11	-0,04	-0,02	-0,17	-0,31	-0,40	-0,34	-0,01	-0,36	-0,21	0,07	0,25	0,18	0,39
N89G	-0,37	-0,63	-0,08	-0,05	-0,12	-0,05	0,01	0,00	-0,04	-0,14	-0,06	-0,09	-1,00	-0,63	-0,31	0,09	0,35	0,11	0,41
N89H	-0,21	-0,45	-0,07	-0,07	-0,06	-0,07	-0,01	-0,03	-0,12	-0,19	-0,13	-0,17	-0,13	-0,17	-0,12	0,13	0,40	0,32	0,51
N89I	-0,31	-0,49	-0,10	-0,05	-0,05	-0,06	0,02	0,03	-0,12	-0,22	-0,14	-0,29	-0,07	-0,47	-0,27	0,06	0,22	0,17	0,37
N89K	-0,32	-0,50	-0,07	-0,10	-0,10	-0,11	0,09	-0,02	-0,13	0,62	1,12	0,37	-0,09	-0,54	-0,25	0,06	0,23	0,15	0,32
N89L	-0,27	-0,30	-0,08	-0,10	-0,02	-0,05	-0,02	-0,10	-0,14	-0,34	-0,30	-0,30	-0,18	-0,54	-0,25	0,09	0,34	0,27	0,41
N89M	-0,26	-0,42	-0,07	-0,10	-0,10	-0,09	-0,04	-0,01	-0,16	-0,22	-0,25	-0,26	-0,22	-0,64	-0,30	0,07	0,24	0,20	0,36
N89P	-0,87	-0,35	0,03	-0,25	-0,20	-0,21	-0,07	-0,22	-0,22	-0,58	-0,85	-0,65	-0,27	-0,72	-0,33	0,02	0,09	0,07	0,17
N89Q	0,19	-0,52	-0,09	0,01	0,00	-0,03	0,02	0,15	0,03	-0,06	0,10	-0,14	0,20	-0,41	-0,25	0,09	0,29	0,24	0,34
N89R	-0,53	-0,57	-0,07	-0,14	-0,14	-0,15	-0,06	-0,13	-0,26	0,13	0,56	-0,09	-0,38	-0,70	-0,31	0,03	0,12	0,10	0,27
N89S	-0,16	-0,15	-0,03	-0,07	-0,07	-0,07	0,09	0,03	-0,08	0,08	-0,13	-0,23	-0,20	-0,24	-0,11	0,14	0,45	0,34	0,53
N89T	-0,22	-0,09	-0,03	-0,04	-0,03	-0,05	0,11	0,10	0,07	-0,02	-0,01	-0,09	0,02	-0,40	-0,15	0,10	0,32	0,22	0,36
N89V	-0,08	-0,03	0,10	0,00	0,01	0,00	-0,09	0,03	0,10	0,05	0,01	0,07	-0,28	-0,11	-0,06	0,18	0,45	0,41	0,56
N89W	-0,46	-0,46	-0,04	-0,09	-0,14	-0,08	-0,05	-0,06	-0,11	-0,15	-0,16	-0,30	-0,18	-0,36	-0,15	0,05	0,16	0,13	0,33
N89Y	-0,17	-0,04	0,03	0,00	-0,01	0,01	-0,05	-0,02	-0,02	-0,02	-0,07	-0,15	0,15	-0,12	-0,05	0,08	0,31	0,24	0,39
L90A	-0,02	-0,61	-0,05	0,03	0,02	0,05	0,05	-0,07	-0,15	0,47	0,55	0,29	-0,07	-0,57	-0,19	0,11	0,28	0,23	0,35
L90C	-0,05	-0,14	-0,03	0,06	0,06	0,12	-0,01	0,05	0,05	0,21	0,22	0,15	-0,28	-0,23	-0,08	0,09	0,25	0,21	0,34
L90D	0,10	-0,37	-0,04	0,11	0,10	0,18	-0,08	-0,08	-0,09	0,48	0,16	0,31	-0,90	-0,69	-0,24	0,21	0,52	0,42	0,59
L90E	-0,06	-0,48	-0,03	-0,02	0,02	0,05	-0,04	-0,14	-0,09	-0,01	-0,12	0,19	-0,58	-0,43	-0,18	0,13	0,36	0,28	0,41
L90F	-0,32	-0,57	-0,08	-0,05	-0,07	-0,05	-0,11	-0,11	-0,13	0,01	0,09	-0,08	0,01	-0,43	-0,18	0,07	0,18	0,15	0,25
L90G	0,00	-0,63	-0,06	0,00	0,00	-0,06	0,03	0,02	-0,05	0,45	0,30	0,07	-0,25	-0,56	-0,18	0,08	0,25	0,10	0,32
L90H	-0,18	-0,62	-0,06	-0,02	-0,02	-0,01	-0,07	-0,08	-0,15	0,02	0,07	0,09	-0,21	-0,57	-0,18	0,09	0,24	0,19	0,33
L90I	-0,30	-0,27	-0,02	-0,04	-0,05	-0,02	-0,06	0,01	-0,05	0,06	0,09	-0,03	-0,08	-0,35	-0,07	0,10	0,31	0,26	0,30
L90K	-0,36	-0,66	-0,08	0,02	0,00	0,03	-0,11	-0,19	-0,24	0,31	0,66	0,15	-0,33	-0,50	-0,19	0,06	0,15	0,14	0,32

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
L90M	-0,10	-0,43	-0,05	-0,03	-0,05	-0,02	0,02	0,05	-0,04	-0,14	-0,31	-0,14	-0,19	-0,36	-0,14	0,09	0,22	0,19	0,30
L90N	-0,14	-0,63	-0,07	0,02	0,02	0,03	0,01	0,08	0,05	0,50	0,62	0,37	-0,23	-0,49	-0,17	0,12	0,39	0,30	0,38
L90P	-0,71	-0,63	-0,04	-0,17	-0,20	-0,14	-0,06	-0,27	-0,32	-0,31	-0,47	-0,41	-0,41	-0,76	-0,25	0,04	0,13	0,12	0,21
L90Q	-0,45	-0,65	-0,07	-0,04	-0,03	-0,02	-0,04	-0,10	-0,28	0,07	0,01	0,01	0,08	-0,60	-0,22	0,08	0,24	0,19	0,31
L90R	-0,44	-0,64	-0,07	-0,02	-0,04	-0,01	-0,08	-0,11	-0,32	0,36	0,62	0,14	-0,26	-0,58	-0,18	0,07	0,22	0,19	0,31
L90S	-0,02	-0,63	-0,05	0,03	-0,01	0,03	-0,01	-0,02	-0,15	0,38	0,46	0,18	-0,26	-0,45	-0,18	0,11	0,33	0,26	0,34
L90T	-0,09	-0,60	-0,06	-0,02	-0,05	-0,03	-0,09	-0,06	-0,27	0,30	0,32	0,11	-0,63	-0,66	-0,20	0,16	0,42	0,32	0,44
L90V	0,08	-0,31	-0,02	0,04	0,05	0,08	-0,11	-0,06	-0,09	0,10	0,11	0,08	-0,57	-0,40	-0,14	0,13	0,37	0,29	0,46
L90W	-0,54	-0,66	-0,06	-0,12	-0,14	-0,10	-0,08	-0,20	-0,21	-0,31	-0,24	-0,29	-0,47	-0,69	-0,24	0,04	0,12	0,10	0,23
L90Y	0,13	-0,41	-0,07	0,06	0,04	0,07	-0,13	-0,03	-0,22	0,25	0,31	0,23	-0,33	-0,57	-0,18	0,08	0,22	0,19	0,31
D91A	0,11	-0,32	-0,02	0,08	0,02	0,00	-0,11	-0,32	-0,42	0,09	0,17	0,20	0,33	-0,39	-0,16	0,09	0,27	0,23	0,42
D91C	-0,02	-0,30	-0,02	0,09	0,06	0,04	-0,16	-0,27	-0,36	0,11	0,04	0,16	0,35	-0,41	-0,14	0,07	0,20	0,19	0,39
D91E	0,08	-0,23	-0,02	0,06	0,06	0,06	-0,14	-0,23	-0,16	0,02	-0,01	0,25	-0,21	-0,28	-0,11	0,13	0,27	0,28	0,61
D91F	0,03	-0,30	-0,02	0,09	0,04	-0,01	-0,01	-0,09	-0,29	0,55	0,53	0,40	-0,17	-0,42	-0,13	0,12	0,32	0,28	0,54
D91G	0,02	-0,29	-0,01	0,05	0,01	0,01	-0,10	-0,28	-0,47	0,51	0,12	0,24	0,40	-0,39	-0,15	0,07	0,19	0,12	0,50
D91H	-0,24	-0,41	-0,02	-0,01	-0,04	-0,07	-0,02	-0,15	-0,25	-0,03	-0,18	0,04	0,08	-0,44	-0,16	0,07	0,19	0,16	0,45
D91I	-0,18	-0,43	-0,06	-0,12	-0,12	-0,15	-0,45	-0,09	-0,65	-0,06	0,10	-0,25	0,49	-0,32	-0,15	0,02	0,07	0,05	0,17
D91K	-0,22	-0,19	-0,01	0,05	-0,15	-0,10	0,08	0,07	0,00	0,43	0,46	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13
D91L	-0,14	-0,37	-0,04	-0,02	-0,05	-0,05	-0,31	-0,42	-0,68	0,15	0,01	0,06	0,20	-0,44	-0,16	0,07	0,21	0,17	0,39
D91M	-0,15	-0,43	-0,03	-0,02	-0,07	-0,07	-0,19	0,06	-0,41	0,23	0,18	0,00	0,06	-0,44	-0,17	0,06	0,17	0,16	0,33
D91N	-0,14	-0,31	-0,02	0,01	-0,05	-0,02	-0,27	-0,20	-0,48	0,09	-0,07	0,05	0,26	-0,41	-0,14	0,04	0,16	0,14	0,35
D91P	-0,01	-0,25	-0,02	0,05	0,04	0,03	-0,34	-0,55	-0,78	0,40	0,25	0,28	0,17	-0,41	-0,12	0,07	0,22	0,19	0,44
D91Q	-0,08	-0,39	-0,02	0,04	0,04	0,00	-0,22	-0,37	-0,56	0,10	0,10	0,21	0,12	-0,44	-0,17	0,08	0,18	0,16	0,38
D91R	-0,05	-0,23	0,06	0,06	0,00	0,01	-0,13	-0,22	-0,42	0,47	0,41	0,29	0,02	-0,42	-0,14	0,09	0,23	0,19	0,44
D91S	-0,06	-0,30	-0,03	0,07	0,04	0,03	-0,24	-0,31	-0,40	0,40	0,22	0,25	0,17	-0,42	-0,14	0,10	0,25	0,22	0,48
D91T	0,08	-0,22	-0,03	0,07	0,05	0,03	-0,05	-0,30	-0,42	0,15	0,20	0,35	0,28	-0,34	-0,11	0,13	0,43	0,34	0,50
D91V	-0,05	-0,27	-0,02	0,05	0,01	0,05	-0,40	-0,50	-0,79	0,36	0,27	0,31	0,17	-0,38	-0,13	0,09	0,29	0,24	0,44
D91W	-0,32	-0,34	-0,02	-0,04	-0,08	-0,08	-0,21	-0,38	-0,73	0,14	0,32	-0,09	0,00	-0,42	-0,19	0,03	0,10	0,09	0,30
D91Y	0,14	-0,32	-0,02	0,08	0,02	-0,01	-0,40	-0,27	-0,42	0,28	0,24	0,13	0,08	-0,43	-0,15	0,11	0,36	0,32	0,64
G92A	-0,53	-0,15	-0,02	-0,14	-0,15	-0,14	-0,03	-0,07	-0,21	-0,14	-0,12	-0,14	0,00	-0,46	-0,15	0,32	0,52	0,14	0,85
G92C	-1,24	-0,28	-0,11	-0,29	-0,29	-0,27	-0,27	-0,40	-0,67	-0,57	-0,65	-0,47	-0,92	-0,52	-0,28	0,00	0,00	0,00	0,19
G92D	-0,69	-0,20	-0,02	-0,28	-0,27	-0,23	-0,10	-0,07	-0,29	-0,55	-0,49	-0,50	-0,30	-0,48	-0,13	0,15	0,51	0,24	0,70
G92E	-0,76	-0,21	-0,02	-0,28	-0,29	-0,23	-0,07	-0,21	-0,39	-0,59	-0,59	-0,55	-0,24	-0,51	-0,21	0,15	0,42	0,23	0,68
G92F	-0,84	-0,22	-0,02	-0,32	-0,31	-0,25	-0,14	-0,28	-0,35	-0,64	-0,62	-0,68	-0,64	-0,59	-0,27	0,10	0,21	0,15	0,44
G92H	-0,71	-0,19	-0,02	-0,27	-0,27	-0,23	-0,01	-0,20	-0,33	-0,39	-0,46	-0,45	-0,11	-0,51	-0,20	0,19	0,54	0,23	0,56
G92I	-0,87	-0,22	-0,03	-0,33	-0,31	-0,25	-0,17	-0,25	-0,29	-0,78	-0,73	-0,72	-0,49	-0,54	-0,24	0,10	0,28	0,17	0,40
G92K	-0,75	-0,19	-0,02	-0,26	-0,26	-0,23	-0,01	-0,14	-0,36	-0,31	-0,35	-0,41	-0,04	-0,47	-0,14	0,18	0,51	0,24	0,65
G92L	-0,94	-0,22	-0,02	-0,32	-0,30	-0,25	-0,20	-0,28	-0,37	-0,77	-0,74	-0,73	-0,59	-0,43	-0,07	0,09	0,21	0,14	0,34
G92M	-0,90	-0,22	-0,02	-0,33	-0,29	-0,24	0,02	-0,19	-0,15	-0,80	-0,79	-0,76	-0,23	-0,42	-0,06	0,18	0,25	0,15	0,30
G92N	-0,74	-0,21	-0,02	-0,31	-0,30	-0,24	-0,09	-0,24	-0,34	-0,58	-0,62	-0,59	-0,32	-0,53	-0,20	0,16	0,50	0,24	0,65
G92P	-0,74	-0,20	-0,02	-0,27	-0,26	-0,23	-0,05	-0,07	-0,34	-0,32	-0,41	-0,42	-0,32	-0,45	-0,11	0,13	0,41	0,24	0,62
G92Q	-1,38	-0,18	-0,21	-0,51	-0,50	-0,42	-0,16	-0,31	-0,74	-0,59	-1,04	-0,71	-0,89	-0,52	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,26
G92R	-0,73	-0,18	-0,02	-0,29	-0,27	-0,24	-0,02	-0,29	-0,36	-0,47	-0,83	-0,53	-0,33	-0,49	-0,19	0,15	0,47	0,25	0,45
G92S	-0,61	-0,16	-0,02	-0,22	-0,23	-0,21	-0,01	-0,15	-0,28	-0,38	-0,34	-0,36	-0,07	-0,50	-0,19	0,24	0,59	0,19	0,79
G92T	-0,71	-0,20	-0,02	-0,27	-0,27	-0,22	-0,03	-0,14	-0,38	-0,40	-0,48	-0,46	-0,04	-0,47	-0,16	0,17	0,48	0,22	0,56
G92V	-0,67	-0,20	-0,03	-0,33	-0,31	-0,24	-0,19	-0,21	-0,41	-0,59	-0,60	-0,57	-0,22	-0,49	-0,16	0,13	0,46	0,24	0,61
G92W	-0,87	-0,21	-0,02	-0,26	-0,30	-0,25	-0,08	-0,25	-0,17	-0,74	-0,73	-0,72	-0,55	-0,53	-0,23	0,10	0,17	0,13	0,33
G92Y	-0,79	-0,19	-0,02	-0,30	-0,29	-0,25	-0,06	-0,19	-0,33	-0,56	-0,59	-0,57	-0,33	-0,45	-0,10	0,11	0,30	0,18	0,37
G93A	-0,62	-0,16	-0,03	-0,09	-0,17	-0,21	0,01	-0,08	-0,17	-0,08	0,01	-0,04	-0,20	-0,39	-0,13	0,12	0,24	0,18	0,68
G93C	-1,26	0,08	-0,23	-0,20	-0,26	-0,28	0,09	-0,19	-0,58	0,22	-0,01	-0,11	-0,99	-0,58	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,27
G93D	-1,22	0,03	-0,22	-0,25	-0,27	-0,24	-0,05	-0,28	-0,65	-0,13	-0,37	-0,29	-0,73	-0,56	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,35
G93E	-1,61	-0,39	-0,23	-0,56	-0,53	-0,44	-0,13	-0,74	-1,10	-0,74	-1,39	-1,05	-1,26	-0,65	-0,36	0,00	0,00	0,00	0,22
G93F	-0,89	-0,19	-0,03	-0,35	-0,36	-0,31	0,12	-0,06	-0,20	0,16	-0,06	-0,01	-0,64	-0,36	-0,10	0,10	0,20	0,15	0,53
G93H	-0,12	-0,03	0,00	0,07	-0,03	-0,01	-0,01	-0,07	0,02	-0,10	0,00	-0,06	-0,11	-0,32	-0,17	0,12	0,31	0,20	0,88
G93I	-1,55	-0,07	-0,23	-0,48	-0,51	-0,43	0,04	-0,39	-0,90	0,02	-0,60	-0,47	-1,28	-0,58	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,28
G93K	-1,23	0,09	-0,24	-0,32	-0,37	-0,36	-0,08	-0,32	-0,77	0,28	0,22	0,51	-0,96	-0,55	-0,29	0,00	0,00	0,00	0,33
G93L	-1,08	-0,19	-0,04	-0,40	-0,40	-0,33	-0,18	-0,29	-0,42	-0,42	-0,40	-0,50	-0,70	-0,41	-0,14	0,11	0,16	0,13	0,62
G93M	-0,97	-0,19	-0,04	-0,27	-0,33	-0,32	-0,04	-0,08	-0,53	0,29	0,11	-0,02	-0,59	-0,44	-0,22	0,14	0,29	0,19	0,57
G93N	-0,74	-0,15	0,15	-0,17	-0,25	-0,20	0,05	0,06	-0,14	0,05	-0,10	-0,07	-0,06	-0,45	-0,23	0,17	0,37	0,24	0,80
G93P	-0,25	-0,14	-0,02	-0,04	-0,05	-0,03	0,02	0,05	-0,02	-0,07	-0,17	-0,07	-0,43	-0,19	-0,05	0,34	0,48	0,15	0,85
G93Q	-1,48	0,03	-0,23	-0,34	-0,39	-0,39	-0,08	-0,23	-0,72	0,06	-0,07	-0,20	-0,97	-0,56	-0,29	0,00	0,00	0,00	0,32
G93R	-0,97	-0,17	-0,03	-0,15	-0,35	-0,31	0,05	-0,07	0,04	-0,22	-0,27	-0,24	-0,31	-0,40	-0,13	0,19	0,48	0,23	1,07
G93S	-0,43	-0,13	-0,02	-0,05	-0,14	-0,10	0,04	0,00	-0,08	-0,03	-0,02	-0,02	0,01	-0,36	-0,13	0,12	0,22	0,17	0,59
G93T	-0,83	-0,17	-0,04	-0,15	-0,25	-0,24	0,19	0,04	-0,22	-0,03	-0,12	-0,10	-0,03	-0,46	-0,22	0,14	0,37	0,24	0,72
G93V	-1,15	-0,21	-0,04	-0,40	-0,40	-0,32	-0,02	-0,09	-0,14	-0,22	-0,28	-0,33	-0,66	-0,36	-0,08	0,13	0,15	0,13	0,52
G93W	-1,17	-0,17	-0,03	-0,41	-0,36	-0,29	-0,08	-0,29	-0,33	-0,52	-0,35	-0,47	-0,68	-0,43	-0,19	0,04	0,30	0,20	0,59
G93Y	-0,96	-0,19	-0,03	-0,23	-0,38	-0,31	0,12	0,03	-0,41	0,15	-0,19	-0,23	-0,59	-0,40	-0,13	0,11	0,23	0,17	0,51
N94A	0,03	0,00	0,02	-0,01	0,07	0,00	0,02	-0,01	-0,04	-0,10	-0,07	0,03	-0,07	-0,13	-0,06	0,05	0,16	0,15	0,71
N94C	-0,23	0,01	-0,19	-0,21	-0,11	-0,06	0,05	-0,21	-0,48	-0,42	-0,61	-0,18	-0,45	-0,31	-0,23	0,00	0,00	0,00	0,37
N94D	-0,05	0,03	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,04	-0,03	-0,25	-0,26	-0,09	-0,16	-0,10	-0,07	0,05	0,14	0,13	0,66
N94E	-0,46	0,25	-0,22	-0,21	-0,17	-0,13	0,15	-0,20	-0,35	-0,36	-0,77	-0,28	-0,72	-0,58	-0,44	0,00	0,00	0,00	0,24
N94F	-0,30	0,00	0,01	0,05	0,05	0,03	0,10	0,11	0,05	0,05	-0,08	0,01	-0,03	0,04	0,03	0,14	0,35	0,29	0,82
N94G	-0,06	-0,03	0,01	0,09	0,05	0,03	0,12	0,10	0,06	0,31	0,00	0,23	0,10	-0,02	-0,03	0,10	0,30	0,00	0,79
N94H	-0,02	-0,05	0,00	0,03	0,04	0,02	0,06	0,06	-0,01	-0,04	0,03	0,12	0,08	-0,14	-0,05	0,08	0,23	0,20	0,67
N94I	0,01	0,06	0,02	-0,07	-0,05	-0,05	0,06	0,03	0,05	-0,20	-0,19	-0,17	0,12	-0,03	-0,01	0,10	0,20	0,22	0,79
N94K	-0,36	-0,02	-0,21	-0,21	-0,17	-0,14	-0,06	-0,33	-0,50	-0,04	-0,20	-0,07	-0,57	-0,48	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,45
N94L	-0,34	-0,09	0,00	-0,03	-0,06	-0,07	-0,03	-0,06	-0,08	-0,15	-0,15	-0,11	-0,14	-0,26	-0,12	0,05	0,15	0,14	0,56
N94M	-0,28	-0,02	0,00	-0,06	-0,08	-0,06	-0,07	-0,03	0,02	-0,27	-0,07	0,03	-0,04	-0,10	-0,11	0,07	0,18	0,20	0,70
N94P	-0,64	-0,10	0,01	-0,04	-0,11	-0,13	0,05	-0,06	-0,17	-0,16	-0,28	-0,07	0,04	-0,36	-0,16	0,09	0,24	0,20	0,64
N94Q	-0,20	-0,07	0,02	-0,04	-0,05	-0,05	-0,01	-0,13	-0,16	0,13	-0,35	-0,08	0,15	-0,09	-0,07	0,09	0,22	0,21	0,51
N94R	-0,02	0,00	0,02	0,07	0,04	0,04	0,08	0,09	0,08	0,00	-0,16	0,09	-0,09	-0,03	0,01	0,15	0,35	0,29	0,84
N94S	-0,12	-0,03	0,01	-0,01	-0,02	-0,01	-0,08	0,00	-0,15	0,07	0,02	-0,05	-0,04	-0,06	-0,02	0,04	0,12	0,11	0,52
N94T	-0,08	-0,42	-0,10	-0,08	-0,11	-0,02	0,17	0,10	0,13	0,47	0,31	0,16	-0,13	-0,26	-0,27	0,00	0,00	0,00	0,35
N94V	-0,55	-0,09	0,00	-0,04	-0,04	-0,04	0,02	0,05	0,03	-0,06	-0,24	-0,14	0,25	-0,25	-0,17	0,09	0,28	0,25	0,67
N94W	0,07	-0,35	-0,04	-0,10	-0,10	-0,06	0,00	-0,05	-0,08	0,04	-0,07	-0,08	-0,14	-0,06	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,42
N94Y	-0,24	-0,02	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	-0,01	-0,09	-0,01	0,01	-0,14	-0,07	0,11	0,28	0,25	0,82
K95A	-0,23	0,01	0,00	0,03	0,01	0,00	0,21	0,11	-0,02	-0,06	-0,48	-0,16	-0,64	-0,61	-0,33	0,27	0,27	0,16	0,52
K95C	0,02	0,00	0,00	0,04	0,03	0,01	0,07	0,09	-0,04	0,42	-0,12	0,04	-1,42	-0,35	-0,16	0,32	0,31	0,09	0,55
K95D	-0,39	-0,05	-0,02	-0,04	-0,08	-0,06	-0,03	-0,03	-0,25	-0,36	-0,63	-0,45	-0,92	-1,22	-0,53	0,24	0,44	0,15	0,49
K95E	-0,17	-0,05	-0,02	0,02	-0,05	-0,02	0,15	-0,16	0,17	0,41	-0,22	0,09	-1,05	-0,94	-0,33	0,23	0,43	0,18	0,46
K95F	-0,05	-0,04	-0,03	0,03	-0,01	0,01	0,16	0,09	-0,04	0,48	-0,24	0,02	-1,51	-0,61	-0,21	0,39	0,28	0,10	0,69
K95G	-0,36	-0,05	-0,04	-0,03	-0,05	-0,05	-0,02	-0,06	-0,23	-0,23	-0,56	-0,34	-0,34	-0,98	-0,41	0,17	0,45	0,18	0,39
K95H	-0,48	0,00	-0,22	-0,20	-0,19	-0,13	0,10	-0,12	-0,36	0,22	-0,36	-0,17	-0,61	-0,62	-0,46	0,00	0,00	0,00	0,27
K95I	-0,63	-0,07	-0,21	-0,24	-0,22	-0,15	-0,02	-0,30	-0,52	-0,29	-0,85	-0,40	-0,46	-0,57	-0,39	0,00	0,00	0,00	0,44
K95L	0,01	0,04	-0,03	0,03	0,01	0,02	0,10	0,08	0,03	0,27	-0,21	0,16	-1,26	-0,20	0,01	0,28	0,43	0,14	0,50
K95M	-0,05	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,14	0,17	-0,05	0,21	-0,41	-0,11	-1,40	-0,34	-0,15	0,33	0,37	0,11	0,58
K95N	-0,16	-0,07	-0,02	0,01	0,00	-0,01	0,06	0,06	-0,03	0,21	-0,08	0,20	-0,83	-0,85	-0,37	0,24	0,50	0,17	0,43
K95P	-0,35	-0,08	-0,04	-0,06	-0,07	-0,06	0,02	-0,14	-0,39	-0,14	-0,45	-0,10	-0,41	-1,02	-0,40	0,22	0,50	0,15	0,43
K95Q	-0,56	-0,12	-0,23	-0,17	-0,18	-0,10	-0,02	-0,28	-0,46	-0,02	-0,33	-0,05	-0,28	-0,36	-0,26	0,00	0,00	0,00	0,32
K95R	0,06	0,04	-0,03	0,01	0,00	0,02	0,13	0,02	-0,02	0,01	-0,28	-0,08	0,86	0,38	0,32	0,11	0,25	0,18	0,20

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
K95S	-0,10	-0,06	0,04	0,03	0,02	0,01	-0,01	0,01	0,21	0,18	-0,04	0,25	-0,87	-0,68	-0,32	0,23	0,46	0,15	0,42
K95T	-0,02	-0,01	-0,03	0,01	-0,01	0,01	0,10	0,10	-0,06	0,26	-0,06	0,18	-0,67	-0,10	-0,07	0,25	0,50	0,15	0,47
K95V	-0,19	-0,03	-0,02	-0,01	-0,03	-0,02	-0,03	0,03	-0,15	-0,19	-0,61	-0,37	-0,30	-0,38	-0,29	0,21	0,46	0,18	0,41
K95W	-0,14	-0,04	-0,04	-0,03	-0,05	-0,02	0,19	0,08	0,16	0,00	-0,31	-0,17	-1,49	-0,55	-0,37	0,29	0,29	0,10	0,64
K95Y	-0,03	-0,06	-0,03	0,06	0,01	-0,01	0,14	0,16	0,06	0,37	-0,19	0,01	-1,40	-0,46	-0,24	0,29	0,32	0,11	0,58
V96A	-0,22	0,00	0,01	-0,09	-0,07	-0,05	-0,07	-0,07	-0,03	-0,24	-0,17	-0,35	0,26	0,12	-0,02	0,07	0,22	0,19	0,70
V96C	-0,18	0,24	0,01	0,06	0,09	0,03	0,18	0,09	0,33	-0,35	-0,07	-0,12	0,05	0,15	0,21	0,19	0,48	0,37	1,08
V96D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
V96E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
V96F	-1,12	-0,13	0,00	-0,27	-0,24	-0,24	-0,24	-0,15	-0,35	-0,75	-0,57	-0,59	-0,13	-0,16	-0,03	0,01	0,03	0,04	0,47
V96G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,09
V96H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,07
V96I	-0,04	0,03	0,00	0,00	0,00	0,02	-0,01	-0,10	0,06	0,04	-0,08	-0,13	-0,02	-0,03	-0,08	0,03	0,07	0,06	0,57
V96K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
V96L	-0,26	0,15	0,01	-0,01	-0,03	0,02	0,01	0,08	0,04	-0,37	-0,19	-0,12	0,09	0,14	0,18	0,15	0,35	0,30	1,03
V96M	0,02	0,07	0,00	0,05	0,05	0,08	0,04	0,04	0,14	-0,08	-0,08	-0,12	0,17	0,43	0,19	0,18	0,42	0,32	0,86
V96N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,06
V96P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,08
V96Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
V96R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,04
V96S	-0,54	-0,06	0,01	-0,17	-0,16	-0,10	-0,11	-0,12	-0,13	-0,64	-0,34	-0,49	0,03	-0,10	-0,16	0,03	0,07	0,10	0,44
V96T	-0,16	0,02	0,05	-0,01	-0,02	0,01	0,02	-0,03	0,08	-0,32	0,01	-0,22	0,36	0,19	0,02	0,09	0,27	0,24	0,79
V96W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,04
V96Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
A97C	-0,05	-0,30	0,07	0,08	0,06	0,06	0,03	0,21	0,09	0,07	0,01	0,12	-0,13	0,03	0,03	0,27	0,33	0,41	0,69
A97D	-0,12	-0,88	-0,17	-0,12	-0,15	-0,05	-0,26	-0,22	-0,29	-0,33	-0,43	-0,03	0,11	-0,41	-0,27	0,00	0,00	0,00	0,29
A97E	-0,10	-0,05	-0,09	-0,03	-0,02	0,00	-0,08	0,00	-0,09	0,17	0,16	0,39	-0,10	-0,18	-0,09	0,10	0,08	0,28	0,36
A97F	-0,29	-0,30	0,01	-0,01	-0,04	0,01	-0,08	-0,06	-0,10	-0,22	-0,36	-0,29	-0,15	0,14	0,03	0,24	0,37	0,50	0,81
A97G	0,11	-0,01	-0,02	0,04	0,05	0,04	0,03	0,06	0,02	0,12	-0,09	-0,10	0,06	-0,08	-0,03	0,12	0,13	0,31	0,39
A97H	-0,12	-0,58	-0,14	-0,13	-0,18	-0,10	-0,23	-0,22	-0,22	-0,40	-0,46	-0,24	0,13	-0,05	-0,12	0,00	0,00	0,00	0,27
A97I	-0,36	-0,38	-0,02	-0,10	-0,11	-0,09	-0,07	0,05	-0,16	-0,46	-0,31	-0,07	-0,09	-0,19	-0,13	0,11	0,15	0,32	0,45
A97K	0,01	-0,10	-0,04	-0,04	-0,03	-0,01	-0,04	0,07	-0,01	0,09	-0,14	-0,22	0,12	-0,07	-0,09	0,16	0,24	0,41	0,53
A97L	-0,15	-0,30	0,17	0,02	-0,01	0,03	-0,07	-0,02	-0,06	-0,13	0,03	-0,19	-0,32	0,24	0,18	0,28	0,41	0,45	0,78
A97M	-0,01	-0,06	-0,03	-0,04	-0,06	0,00	0,02	0,03	0,04	-0,24	-0,29	-0,32	0,13	0,03	-0,04	0,16	0,21	0,41	0,49
A97N	-0,18	-0,88	-0,18	-0,17	-0,21	-0,17	-0,11	-0,18	-0,25	-0,24	-0,38	-0,20	-0,38	-0,51	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,22
A97P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,08
A97Q	-0,30	-0,20	-0,02	-0,03	-0,05	-0,06	-0,07	-0,08	-0,15	-0,58	-0,56	-0,10	-0,11	-0,25	-0,14	0,09	0,09	0,20	0,37
A97R	-0,08	-0,37	-0,09	-0,01	-0,04	-0,02	0,00	0,00	-0,06	0,07	0,10	-0,14	0,07	-0,18	-0,08	0,10	0,11	0,29	0,39
A97S	0,03	-0,14	-0,07	0,01	-0,01	0,01	0,00	-0,02	-0,04	0,00	-0,08	0,25	0,03	-0,15	-0,11	0,11	0,15	0,36	0,37
A97T	-0,20	-0,20	0,12	0,06	0,03	0,04	-0,08	0,04	-0,08	-0,13	-0,07	0,00	-0,25	0,20	0,07	0,25	0,42	0,47	0,79
A97V	-0,22	-0,24	-0,02	-0,01	-0,06	0,00	-0,11	-0,05	-0,02	-0,10	-0,16	-0,20	0,00	0,11	0,02	0,21	0,30	0,48	0,70
A97W	-0,15	0,00	0,25	0,02	0,02	0,05	-0,02	-0,06	-0,04	0,07	0,04	0,07	-0,15	0,28	0,13	0,25	0,43	0,49	0,72
A97Y	-0,10	-0,16	-0,01	0,06	-0,07	0,00	0,05	0,14	0,14	-0,01	0,20	-0,10	-0,21	0,19	0,07	0,28	0,40	0,48	0,71
N98A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06	0,24	0,24	0,08
N98C	1,46	0,57	0,03	0,40	0,54	0,51	0,29	0,33	0,13	0,45	0,29	0,30	-0,54	-1,68	-1,08	0,12	0,31	0,27	0,18
N98D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13	0,27	0,28	0,09
N98E	-0,14	-0,06	0,01	-0,05	0,00	-0,02	0,12	-0,24	-0,14	0,01	-0,49	-0,34	1,02	-0,62	-0,57	0,21	0,39	0,28	0,10
N98F	-0,08	-0,05	-0,01	0,00	-0,02	-0,02	0,09	-0,08	-0,13	-0,34	-0,50	-0,19	-0,53	-1,69	-0,91	0,05	0,17	0,16	0,11
N98G	-0,09	-0,04	-0,01	-0,03	-0,01	-0,02	-0,01	-0,07	-0,08	0,04	-0,03	0,06	0,35	-1,50	-0,87	0,18	0,39	0,30	0,15
N98H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,12	0,12	0,04
N98I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,14	0,13	0,07
N98K	-0,19	-1,78	-0,18	-0,23	-0,42	-0,38	-0,18	-0,29	-0,62	-0,24	-0,53	-0,48	-0,97	-0,56	-0,33	0,00	0,00	0,00	0,32
N98L	-0,13	-0,06	0,00	-0,05	-0,02	-0,02	-0,20	-0,04	-0,11	0,01	-0,24	-0,11	-0,26	-1,66	-0,70	0,09	0,29	0,25	0,12
N98M	-0,08	-0,04	-0,02	-0,03	-0,02	-0,02	0,12	0,10	-0,04	-0,25	-0,33	-0,12	0,48	-1,60	-0,70	0,12	0,32	0,29	0,13
N98P	1,93	0,71	0,04	0,42	0,52	0,39	0,44	0,17	0,36	1,34	0,90	1,00	-0,14	-0,58	-0,34	0,07	0,22	0,20	0,24
N98Q	0,01	-0,68	-0,16	-0,21	-0,24	-0,18	-0,14	-0,08	-0,16	-0,15	-0,79	-0,31	-0,31	-0,25	-0,19	0,00	0,00	0,00	0,20
N98R	-0,09	-0,05	-0,01	-0,04	-0,01	-0,02	-0,11	-0,02	-0,11	-0,43	-0,73	-0,34	-1,61	-1,77	-0,85	0,05	0,14	0,15	0,12
N98S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13	0,27	0,22	0,08
N98T	-0,13	-1,45	-0,18	-0,21	-0,31	-0,25	-0,06	-0,16	-0,39	-0,30	-0,29	-0,45	-0,31	-0,53	-0,32	0,00	0,00	0,00	0,22
N98V	-0,15	0,02	0,06	0,02	-0,01	0,00	0,10	0,12	0,06	-0,25	-0,29	-0,10	-0,62	-1,76	-0,81	0,10	0,26	0,22	0,12
N98W	1,29	0,63	0,02	0,34	0,41	0,47	0,09	0,29	0,08	0,35	0,29	0,34	-0,70	-1,82	-0,90	0,08	0,19	0,21	0,30
N98Y	1,57	0,60	0,00	0,41	0,47	0,53	0,18	0,19	0,22	0,80	0,37	0,65	-0,50	-1,47	-0,76	0,13	0,32	0,28	0,29
V99A	0,01	-1,04	0,02	-0,07	-0,06	-0,04	-0,07	-0,12	-0,14	0,01	-0,15	-0,26	0,00	0,05	-0,05	0,06	0,13	0,13	0,46
V99C	1,02	0,00	0,26	-0,19	-0,16	-0,12	-0,30	-0,32	-0,28	-0,60	-0,67	-0,73	-0,46	-0,10	-0,08	0,01	0,02	0,03	0,35
V99D	-2,05	-2,94	-0,31	0,45	0,44	0,44	0,41	0,70	0,65	1,12	1,87	1,22	2,14	1,38	0,35	0,10	0,28	0,23	0,24
V99E	-1,73	-2,73	-0,19	-0,13	-0,13	-0,09	-0,27	-0,32	-0,22	-0,61	-0,68	-0,69	-0,47	-0,05	-0,25	0,01	0,02	0,04	0,10
V99F	-0,49	-2,29	-0,29	-0,07	-0,02	0,01	-0,03	-0,06	-0,02	-0,16	-0,03	-0,29	0,10	0,23	0,02	0,04	0,05	0,03	0,38
V99G	-1,77	-2,73	-0,29	0,29	0,31	0,32	0,46	0,31	0,42	1,08	1,43	1,04	1,10	0,66	0,20	0,07	0,19	0,06	0,21
V99H	-0,71	-1,95	-0,22	0,00	0,02	0,04	-0,04	-0,03	-0,05	-0,08	-0,11	-0,05	0,51	0,39	0,19	0,06	0,18	0,15	0,39
V99I	-1,08	-1,17	-0,24	-0,14	-0,10	-0,09	0,03	-0,15	-0,20	-0,31	-0,52	-0,57	-0,27	-0,12	-0,13	0,05	0,16	0,14	0,33
V99K	-1,89	-2,79	-0,30	0,01	-0,02	-0,05	0,24	0,14	-0,03	0,32	0,18	0,22	0,53	0,00	-0,05	0,08	0,18	0,18	0,21
V99L	-0,36	-1,39	-0,26	0,05	0,03	0,01	-0,03	0,08	-0,03	0,25	0,20	0,12	0,60	0,07	-0,01	0,07	0,16	0,15	0,34
V99M	-0,49	-1,74	-0,27	-0,17	-0,10	-0,08	-0,10	-0,21	-0,11	-0,38	-0,34	-0,49	-0,19	0,07	-0,05	0,03	0,11	0,10	0,28
V99N	-1,44	-2,56	-0,28	0,00	-0,04	-0,05	0,23	0,14	-0,01	0,20	0,19	0,16	0,54	0,09	0,03	0,06	0,16	0,15	0,19
V99P	-1,74	-2,67	-0,26	-0,13	-0,13	-0,10	0,00	-0,23	-0,23	-0,60	-0,57	-0,50	0,70	-0,01	-0,03	0,01	0,03	0,03	0,14
V99Q	-1,70	-2,82	-0,24	0,27	0,30	0,12	0,33	0,50	0,25	0,39	0,85	0,54	0,67	0,57	0,17	0,04	0,08	0,08	0,20
V99R	-1,93	-2,80	-0,29	0,31	0,29	0,17	0,35	0,38	0,41	0,87	0,96	0,86	1,17	0,57	0,16	0,06	0,14	0,16	0,22
V99S	-1,21	-2,49	-0,23	0,22	0,20	0,20	0,34	0,30	0,20	0,46	0,79	0,73	1,01	0,67	0,03	0,07	0,13	0,14	0,23
V99T	0,06	-0,57	-0,07	-0,18	-0,16	-0,12	-0,19	-0,21	-0,25	-0,53	-0,58	-0,66	-0,16	-0,10	-0,15	0,05	0,12	0,13	0,41
V99W	-0,89	-0,38	-0,04	-0,37	-0,35	-0,28	-0,25	-0,39	-0,53	-0,86	-0,69	-0,56	-1,00	-0,39	-0,21	0,00	0,00	0,00	0,12
V99Y	-1,23	-2,69	-0,28	0,12	0,15	0,15	0,22	0,18	0,14	0,48	0,55	0,49	0,69	0,51	0,00	0,07	0,20	0,19	0,34
V100A	-0,32	-0,96	-0,17	-0,26	-0,32	-0,23	-0,31	-0,29	-0,36	-0,73	-0,85	-0,31	-0,32	-0,50	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,49
V100C	-0,08	-0,40	0,01	0,04	0,02	0,02	-0,04	-0,06	-0,01	0,26	0,53	0,14	0,05	-0,07	-0,07	0,09	0,28	0,42	0,58
V100D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,11	0,02	0,01	0,05
V100E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,11	0,02	0,02	0,07
V100F	-0,96	-1,06	0,00	-0,32	-0,31	-0,29	-0,25	-0,32	-0,39	-0,99	-0,96	-0,90	-0,62	-0,72	-0,31	-0,08	0,03	0,09	0,17
V100G	-0,68	-0,57	0,00	-0,16	-0,14	-0,17	-0,11	-0,09	-0,03	-0,66	-0,61	-0,60	-0,10	-0,47	-0,21	-0,09	0,04	0,01	0,11
V100H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
V100I	-0,01	-0,16	-0,14	-0,19	-0,22	-0,18	-0,33	0,02	-0,17	-0,25	-0,40	-0,32	-0,21	0,04	0,03	0,00	0,00	0,00	0,27
V100K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,11	0,02	0,01	0,06
V100L	-0,12	-0,92	0,00	-0,05	-0,13	-0,15	0,00	-0,01	-0,07	-0,10	-0,13	-0,16	-0,38	-0,23	-0,14	0,00	0,13	0,30	0,45
V100M	-0,31	-1,00	0,00	-0,15	-0,21	-0,22	0,06	-0,06	-0,15	-0,24	-0,24	-0,26	-0,56	-0,27	-0,19	0,05	0,21	0,35	0,60
V100N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,10	0,02	0,04	0,09
V100P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,11	0,01	0,01	0,06
V100Q	-0,61	-0,84	0,00	-0,28	-0,27	-0,25	-0,15	-0,10	-0,20	-0,91	-0,82	-0,80	-0,53	-0,86	-0,35	-0,09	0,04	0,06	0,12
V100R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,11	0,02	0,01	0,06
V100S	-0,52	-0,84	0,00	-0,26	-0,23	-0,21	-0,16	-0,11	-0,10	-0,80	-0,72	-0,69	-0,51	-0,82	-0,35	-0,09	0,03	0,05	0,12
V100T	-0,06	-0,63	0,00	-0,01	-0,04	-0,06	0,00	-0,04	0,00	0,01	0,19	-0,04	-0,10	-0,08	-0,07	0,10	0,27	0,41	0,61
V100W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,13	0,02	0,07	0,05
V100Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,11	0,01	0,00	0,05

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
T101A	-0,12	-1,40	-0,12	-0,07	-0,20	-0,27	0,09	0,00	-0,19	0,29	0,01	0,10	-0,40	-0,10	-0,07	0,01	0,01	0,05	0,43
T101C	-0,19	-1,32	-0,11	-0,02	-0,14	-0,18	-0,01	-0,09	-0,20	0,15	0,37	0,23	-0,44	-0,06	-0,03	0,09	0,09	0,27	0,59
T101D	-1,32	-1,51	-0,14	-0,44	-0,46	-0,41	-0,37	-0,52	-0,78	-1,10	-1,25	-1,16	-0,22	0,16	0,16	0,02	0,03	0,05	0,14
T101E	-1,27	-1,48	-0,12	-0,45	-0,45	-0,41	-0,39	-0,50	-0,67	-1,12	-1,28	-1,17	0,50	0,04	0,05	0,24	0,32	0,56	0,11
T101F	0,12	-1,38	-0,12	0,01	-0,12	-0,09	-0,06	-0,05	-0,17	0,21	0,35	0,18	-0,42	-0,06	-0,01	0,01	0,01	0,06	0,38
T101G	-1,02	-1,49	-0,12	-0,46	-0,46	-0,39	-0,19	-0,36	-0,84	-0,33	-0,67	-0,73	-0,16	0,09	0,10	0,08	0,08	0,00	0,25
T101H	-0,98	-0,37	-0,04	-0,36	-0,35	-0,28	-0,21	-0,38	-0,52	-0,70	-0,61	-0,57	-1,02	-0,64	-0,41	0,00	0,00	0,00	0,18
T101I	0,23	-0,79	-0,08	0,04	0,01	0,00	0,19	0,08	0,09	0,17	0,05	0,11	0,72	0,58	0,39	0,35	0,46	0,53	0,30
T101K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,12	0,19	0,30	0,06
T101L	0,08	-1,29	-0,11	0,04	-0,02	-0,03	0,05	0,10	-0,05	0,24	0,22	0,07	-0,38	0,01	0,03	0,02	0,02	0,06	0,35
T101M	0,11	-1,38	-0,12	0,02	-0,03	-0,05	0,03	-0,03	-0,12	0,23	0,24	0,19	-0,40	-0,02	0,01	0,16	0,22	0,28	0,46
T101N	-1,07	-1,48	-0,13	-0,46	-0,46	-0,41	-0,21	-0,36	-0,79	-0,59	-1,04	-0,99	-0,27	0,05	0,10	0,02	0,01	0,04	0,20
T101P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,24	0,29	0,41	0,07
T101Q	-1,06	-1,47	-0,14	-0,44	-0,44	-0,41	-0,19	-0,45	-0,71	-0,64	-1,08	-1,08	2,25	2,43	1,41	0,28	0,54	0,63	0,23
T101R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,33	0,46	0,59	0,05
T101S	-0,04	-1,36	-0,11	-0,02	-0,14	-0,14	0,01	0,03	-0,16	0,05	0,11	-0,10	1,05	0,95	0,70	0,22	0,37	0,55	0,30
T101V	0,06	-1,33	-0,09	0,02	-0,16	-0,22	0,06	0,03	-0,14	0,00	-0,16	-0,11	1,09	1,26	0,76	0,21	0,40	0,52	0,28
T101W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,31	0,41	0,54	0,08
T101Y	-1,13	-1,47	-0,12	-0,44	-0,46	-0,41	-0,26	-0,57	-0,81	-0,58	-0,93	-1,02	0,85	-0,06	-0,09	0,17	0,28	0,53	0,24
L102A	-0,13	-0,09	-0,04	-0,06	-0,07	-0,06	-0,05	-0,23	-0,34	0,03	-0,02	0,35	-0,69	-0,25	-0,21	0,17	0,55	0,38	0,55
L102C	-0,38	-0,18	-0,05	-0,02	-0,03	-0,02	-0,07	-0,06	-0,37	0,25	0,06	-0,01	-0,50	-0,45	-0,18	0,17	0,55	0,38	0,53
L102D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
L102E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,07
L102F	-0,86	-0,36	-0,04	-0,35	-0,35	-0,28	0,00	-0,10	-0,35	0,14	0,10	-0,12	-0,97	-0,36	-0,21	0,00	0,00	0,00	0,14
L102G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,07
L102H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,06
L102I	-0,33	0,00	0,10	-0,03	-0,02	-0,07	-0,27	-0,40	-0,60	-0,31	0,24	0,34	-0,11	-0,19	-0,10	0,08	0,32	0,23	0,43
L102K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
L102M	-0,44	-0,24	-0,05	0,02	0,22	-0,01	0,31	0,21	0,13	0,25	0,46	0,36	0,51	-0,93	-0,38	0,08	0,27	0,23	0,27
L102N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,04	0,10
L102P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
L102Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,01	0,07
L102R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	-0,02	0,05
L102S	-1,20	-0,30	-0,06	-0,37	-0,35	-0,29	-0,58	-0,77	-0,94	-1,23	-1,22	-1,14	-0,57	-0,69	-0,24	0,02	0,06	0,03	0,11
L102T	-1,15	-0,27	-0,05	-0,20	-0,26	-0,25	-0,45	-0,72	-0,95	-0,54	-0,79	-0,61	0,06	-0,51	-0,24	0,06	0,25	0,18	0,30
L102V	-0,71	-0,15	0,00	-0,08	-0,14	-0,15	-0,49	-0,55	-0,72	-0,74	-0,35	-0,41	0,55	0,24	0,11	0,03	0,14	0,09	0,15
L102W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
L102Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
G103A	-0,86	-0,08	-0,01	-0,26	-0,23	-0,23	-0,75	-0,60	-0,73	-0,73	-0,94	-0,62	-0,91	-0,50	-0,13	0,01	0,05	0,05	0,11
G103C	-1,43	-0,12	-0,02	-0,36	-0,37	-0,32	-0,75	-0,90	-0,73	-0,55	-0,96	-0,70	-1,28	-1,19	-0,50	0,02	0,06	0,05	0,11
G103D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,03
G103E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
G103F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,04	0,06
G103H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,04
G103I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,04
G103K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
G103L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
G103M	-0,42	0,04	-0,01	-0,08	-0,09	-0,10	-0,24	-0,20	-0,17	-0,28	-0,19	-0,22	-0,11	-0,48	-0,12	0,04	0,12	0,11	0,21
G103N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,04
G103P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,05
G103Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
G103R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,04
G103S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,08
G103T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,05
G103V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
G103W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,04
G103Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,00	0,05
G104A	-1,08	-0,19	-0,03	-0,12	-0,18	-0,17	-0,15	-0,07	-0,41	-0,12	-0,31	-0,18	0,24	-0,85	-0,29	0,05	0,15	0,13	0,24
G104C	-1,31	-0,06	-0,03	-0,26	-0,33	-0,29	-0,31	-0,63	-0,83	-0,58	-0,69	-0,76	-0,50	-0,59	-0,09	0,04	0,14	0,13	0,16
G104D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,05
G104E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,04
G104F	-1,25	-0,13	-0,03	-0,36	-0,39	-0,32	-0,19	-0,23	-0,34	-1,16	-1,45	-1,28	-0,71	-0,79	-0,25	0,01	0,02	0,01	0,13
G104H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,09
G104I	-1,41	-0,21	-0,04	-0,34	-0,34	-0,30	-0,23	-0,27	-0,58	-1,31	-1,46	-1,25	-0,69	-0,88	-0,35	0,00	0,02	0,03	0,13
G104K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
G104L	-1,41	-0,20	-0,03	-0,32	-0,33	-0,31	-0,26	-0,37	-0,53	-1,08	-1,37	-1,23	-0,80	-1,08	-0,45	0,01	0,05	0,03	0,14
G104M	-1,37	-0,21	-0,03	-0,35	-0,37	-0,31	-0,23	-0,40	-0,63	-1,32	-1,49	-1,28	-0,88	-0,93	-0,32	0,01	0,01	0,01	0,15
G104N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,08
G104P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,04	0,07
G104Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,07
G104R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,06
G104S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,04	0,08
G104T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,07
G104V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,08
G104W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
G104Y	-1,41	-0,18	-0,04	-0,31	-0,38	-0,32	0,17	0,28	0,09	-1,37	-1,49	-1,32	-0,63	-0,90	-0,23	0,01	0,02	0,02	0,11
A105C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
A105D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,09
A105E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
A105F	-0,69	-0,30	-0,03	-0,22	-0,14	-0,24	0,20	0,11	0,22	-0,55	-0,99	-0,72	-0,34	-0,64	-0,35	0,03	0,05	0,04	0,10
A105G	-1,77	-0,41	-0,03	-0,35	-0,30	-0,28	-0,19	-0,28	-0,30	-0,51	-0,63	-0,50	-1,35	-1,10	-0,34	0,03	0,04	0,03	0,11
A105H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
A105I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,01	0,05
A105K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
A105L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,06
A105M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
A105N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,02	0,02	0,08
A105P	-1,50	-0,37	-0,03	-0,21	-0,21	-0,21	-0,04	0,02	-0,03	-0,38	-0,56	-0,31	-1,08	-1,10	-0,35	0,04	0,08	0,07	0,17
A105Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
A105R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
A105S	-1,01	-0,36	-0,01	-0,26	-0,21	-0,19	-0,21	-0,13	0,05	-0,73	-0,73	-0,47	-0,83	-0,99	-0,34	0,02	0,05	0,04	0,16
A105T	-0,47	-0,29	-0,01	-0,18	-0,12	-0,11	-0,13	0,09	0,38	-0,60	-0,65	-0,51	-0,57	-0,93	-0,32	0,05	0,08	0,08	0,16
A105V	-0,29	-0,02	0,01	-0,11	-0,10	-0,10	0,06	0,52	0,67	-0,09	-0,25	-0,08	-0,23	-0,62	-0,26	0,09	0,14	0,12	0,21
A105W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,09
A105Y	-1,17	-0,35	-0,03	-0,12	-0,11	-0,05	-0,14	-0,04	0,14	-0,83	-0,93	-0,61	-1,23	-1,10	-0,42	0,03	0,03	0,02	0,12
N106A	0,14	0,38	0,04	0,06	0,02	0,11	0,09	0,08	0,01	0,36	0,25	0,21	-0,16	-0,15	-0,22	0,01	0,02	0,03	0,18
N106C	0,44	0,42	0,02	0,01	0,10	0,19	0,07	0,19	0,03	0,65	0,50	0,23	0,77	0,22	0,14	0,05	0,08	0,04	0,20
N106D	-0,02	0,03	0,01	0,05	0,10	0,22	0,05	0,09	0,28	-0,09	0,32	0,23	-0,08	-0,24	-0,14	0,03	0,07	0,07	0,48
N106E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
N106F	-0,69	0,06	0,07	-0,15	0,40	0,00	-0,09	-0,23	-0,04	-0,54	-0,37	-0,19	1,61	0,71	0,32	0,05	0,09	0,05	0,12

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
N106G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13	0,22	0,00	0,03
N106H	-0,40	0,02	-0,01	-0,01	-0,03	-0,06	0,15	-0,04	-0,03	0,58	0,44	0,65	-0,01	0,00	0,01	0,04	0,05	0,05	0,22
N106I	-0,23	0,03	0,01	-0,06	-0,05	0,02	0,03	0,05	0,03	-0,06	-0,13	-0,24	0,98	0,22	0,31	0,02	0,02	0,03	0,15
N106K	0,40	0,06	0,00	0,13	0,14	0,20	0,20	0,13	0,17	0,22	0,27	0,29	0,02	0,02	0,00	0,03	0,03	0,06	0,21
N106L	-0,28	0,01	0,01	-0,01	-0,09	-0,02	0,10	-0,06	-0,03	0,30	0,41	0,06	-0,04	-0,15	-0,14	0,03	0,06	0,07	0,18
N106M	-0,08	0,00	0,00	0,05	0,01	0,08	0,07	0,11	-0,13	0,30	1,03	0,55	-0,07	-0,10	-0,10	0,04	0,04	0,06	0,21
N106P	-0,76	-0,03	0,02	-0,12	-0,12	-0,12	0,02	-0,10	-0,19	0,19	-0,05	-0,12	0,01	-0,06	-0,05	0,05	0,06	0,07	0,19
N106Q	0,03	0,02	0,03	-0,05	-0,03	0,07	0,14	0,05	0,13	-0,10	0,29	-0,25	-0,13	-0,24	-0,19	0,01	0,01	0,01	0,16
N106R	0,80	0,30	0,03	0,08	0,21	0,13	0,20	0,12	0,15	0,55	0,47	0,58	-0,05	0,07	0,04	0,01	0,00	0,01	0,20
N106S	-0,66	-0,02	0,02	-0,09	-0,09	-0,07	0,07	0,03	-0,14	-0,01	0,22	0,04	0,01	0,05	0,02	0,03	0,03	0,04	0,15
N106T	0,26	0,04	-0,01	0,07	0,15	0,10	0,18	-0,11	-0,06	0,45	0,68	0,38	-0,04	-0,12	-0,03	0,02	0,04	0,07	0,35
N106V	-0,42	-0,02	0,01	-0,09	-0,09	-0,02	0,06	-0,11	-0,22	0,10	0,38	-0,01	0,00	-0,02	0,01	0,02	0,01	0,03	0,14
N106W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,04	0,06	0,05
N106Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,02	0,05	0,04
R107A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R107C	-0,49	-1,17	-0,08	-0,16	-0,30	-0,32	-0,03	0,10	0,11	-0,24	-0,21	-0,08	0,50	-0,67	-0,76	0,35	0,53	0,20	0,39
R107D	-1,04	-1,35	-0,08	-0,42	-0,44	-0,39	0,13	-0,26	-0,60	-0,35	-0,20	-0,45	-0,15	-0,76	-0,78	0,34	0,21	0,21	0,52
R107E	-0,95	-1,39	-0,09	-0,40	-0,44	-0,40	0,13	-0,07	-0,18	-0,32	-0,37	-0,35	-0,16	-0,80	-0,80	0,47	0,38	0,08	0,45
R107F	0,03	-1,27	-0,05	0,06	-0,19	-0,24	0,17	0,67	0,08	0,77	1,30	1,79	0,43	-0,51	-0,63	0,39	0,48	0,14	0,40
R107G	-0,26	-1,10	-0,09	0,02	-0,03	-0,05	0,07	0,13	0,67	-0,32	-0,41	-0,32	1,00	-0,64	-0,66	0,32	0,38	0,00	0,32
R107H	-0,16	-1,20	-0,08	0,04	-0,04	-0,11	0,12	0,27	0,34	-0,18	-0,12	-0,05	0,73	-0,53	-0,62	0,35	0,42	0,19	0,34
R107I	-0,10	-1,29	-0,07	-0,02	-0,25	-0,33	0,09	0,21	0,00	0,28	0,31	0,48	0,52	-0,75	-0,71	0,28	0,40	0,22	0,46
R107K	0,07	0,07	0,12	-0,01	-0,08	-0,02	0,12	0,01	0,08	0,07	-0,03	0,18	-0,03	0,21	-0,04	0,42	0,35	0,16	0,30
R107L	0,05	-1,00	-0,06	0,12	0,01	-0,05	0,12	0,19	0,14	0,24	0,29	0,43	0,13	-0,45	-0,64	0,29	0,37	0,08	0,37
R107M	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R107N	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R107P	-1,17	-1,38	-0,09	-0,44	-0,43	-0,38	-0,16	-0,18	-0,10	-0,84	-0,98	-1,03	-0,24	-0,63	-0,64	0,01	0,02	0,03	0,17
R107Q	-0,19	-1,02	-0,08	0,05	-0,02	-0,07	0,09	0,04	0,01	-0,21	-0,16	-0,05	-0,17	-0,35	-0,58	0,64	0,17	0,05	0,51
R107S	-0,40	-1,35	-0,08	-0,08	-0,19	-0,27	0,11	0,19	0,79	-0,32	-0,23	-0,29	0,69	-0,55	-0,60	0,38	0,46	0,20	0,29
R107T	-0,37	-1,30	-0,09	-0,07	-0,18	-0,21	0,09	0,13	0,69	-0,41	-0,47	-0,44	1,00	-0,53	-0,60	0,32	0,46	0,26	0,29
R107V	-0,18	-1,23	-0,08	-0,02	-0,17	-0,25	0,27	0,01	-0,02	-0,12	-0,11	-0,06	1,21	-0,61	-0,58	0,30	0,42	0,32	0,31
R107W	-0,08	-1,14	-0,07	0,12	-0,11	-0,12	0,25	0,09	0,09	0,33	0,00	0,00	0,18	-0,78	-0,77	0,40	0,39	0,12	0,81
R107Y	-0,15	-1,29	-0,08	0,27	-0,09	-0,21	0,13	0,11	0,02	0,75	0,00	0,00	0,11	-0,77	-0,75	0,50	0,19	0,13	0,70
L108A	-1,18	-0,13	-0,01	-0,22	-0,22	-0,19	-0,02	-0,01	0,09	-0,61	-0,57	-0,65	-1,10	-0,81	-0,28	0,11	0,26	0,21	0,22
L108C	-1,07	-0,07	0,00	-0,13	-0,08	0,01	0,00	-0,16	-0,16	-0,71	-0,77	-0,69	-0,95	-0,78	-0,30	0,04	0,06	0,05	0,17
L108D	-1,39	-0,16	-0,01	-0,33	-0,36	-0,32	-0,03	0,00	0,08	-0,56	-0,87	-0,86	-1,62	-0,81	-0,24	0,03	0,07	0,05	0,14
L108E	-1,39	-0,13	-0,01	-0,14	-0,21	-0,20	0,05	0,20	0,10	-0,76	-0,82	-0,74	-1,52	-0,78	-0,25	0,06	0,13	0,10	0,16
L108F	-0,33	-0,01	0,04	-0,10	-0,06	-0,07	-0,07	-0,10	-0,10	0,07	-0,16	0,41	-0,61	-0,56	-0,23	0,11	0,26	0,20	0,37
L108G	-1,39	-0,14	-0,02	-0,23	-0,29	-0,26	0,02	0,15	0,15	-0,42	-0,44	-0,55	-1,59	-0,86	-0,29	0,07	0,17	0,00	0,22
L108H	-1,39	-0,11	-0,02	-0,26	-0,28	-0,23	0,09	0,14	-0,01	-0,62	-0,95	-0,98	-1,52	-0,84	-0,28	0,01	0,04	0,03	0,13
L108I	0,20	-0,09	-0,05	-0,03	-0,02	-0,01	0,09	0,09	0,14	0,25	0,21	0,13	0,07	0,06	0,01	0,00	0,00	0,00	0,29
L108K	-1,06	-0,16	-0,02	-0,32	-0,31	-0,21	-0,02	0,03	0,18	-0,89	-0,88	-0,86	-1,23	-0,73	-0,20	0,02	0,06	0,05	0,16
L108M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,04	0,03
L108N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
L108P	-1,39	-0,15	-0,02	-0,31	-0,36	-0,27	0,03	-0,07	0,08	-0,94	-1,02	-0,91	-1,54	-0,84	-0,29	0,02	0,04	0,04	0,16
L108Q	-1,39	-0,16	-0,02	-0,32	-0,31	-0,24	-0,35	-0,15	-0,22	-0,91	-1,05	-0,94	-1,52	-0,79	-0,26	0,03	0,05	0,04	0,14
L108R	-1,11	-0,13	-0,01	-0,19	-0,19	-0,11	-0,17	-0,04	0,01	-0,70	-0,66	-0,63	-1,07	-0,79	-0,28	0,02	0,07	0,06	0,16
L108S	-1,39	-0,16	-0,02	-0,32	-0,34	-0,26	-0,07	-0,01	0,11	-0,88	-0,99	-0,83	-1,55	-0,83	-0,25	0,02	0,06	0,05	0,13
L108T	-1,32	-0,16	-0,02	-0,26	-0,28	-0,22	-0,21	-0,02	0,13	-0,79	-0,77	-0,70	-1,33	-0,78	-0,26	0,03	0,08	0,08	0,15
L108V	0,04	-0,18	-0,02	-0,12	-0,11	-0,07	0,15	0,04	0,03	0,08	-0,12	-0,14	-0,21	-0,15	-0,09	0,00	0,00	0,00	0,41
L108W	-0,57	0,02	0,02	0,03	-0,01	0,01	-0,04	-0,15	0,07	0,73	0,76	1,03	-0,76	-0,81	-0,28	0,09	0,16	0,14	0,25
L108Y	-0,82	-0,08	0,00	0,06	0,07	0,06	0,05	0,16	0,50	-0,20	-0,35	-0,25	-1,14	-0,89	-0,35	0,08	0,12	0,09	0,22
T109A	-0,53	-0,17	0,00	-0,04	-0,09	-0,10	0,00	-0,02	-0,14	-0,07	0,06	-0,13	0,07	-0,24	-0,22	0,10	0,16	0,03	0,45
T109C	-0,63	-0,16	0,00	-0,05	-0,06	-0,05	0,07	-0,10	-0,12	-0,14	-0,08	-0,19	-0,26	-0,27	-0,16	0,24	0,29	0,00	0,55
T109D	-1,28	-0,22	-0,02	-0,24	-0,32	-0,29	-0,10	-0,23	-0,23	-0,47	-0,60	-0,36	-0,49	-0,49	-0,33	0,15	0,22	0,02	0,55
T109E	-0,23	-1,57	-0,18	-0,22	-0,36	-0,34	-0,03	-0,15	-0,15	-0,93	-1,26	-0,86	-0,71	-0,54	-0,32	0,00	0,00	0,00	0,38
T109F	-0,84	-0,06	-0,01	-0,07	-0,07	-0,08	-0,14	-0,13	-0,26	-0,05	-0,12	-0,06	0,35	-0,23	-0,09	0,12	0,17	0,02	0,49
T109G	-1,20	-0,22	-0,02	-0,19	-0,26	-0,26	-0,10	-0,08	-0,37	-0,34	-0,25	-0,27	0,15	-0,50	-0,37	0,07	0,17	0,00	0,36
T109H	-1,30	-0,22	-0,02	-0,22	-0,31	-0,28	-0,07	-0,24	-0,50	-0,32	-0,25	-0,14	-0,52	-0,53	-0,36	0,16	0,22	0,00	0,50
T109I	-0,11	-1,40	-0,17	-0,24	-0,32	-0,28	0,02	-0,12	-0,33	-0,52	-0,80	-0,51	-0,58	-0,56	-0,32	0,00	0,00	0,00	0,32
T109K	-0,42	-1,77	-0,18	-0,48	-0,55	-0,44	-0,23	-0,38	-0,76	-0,45	-0,63	-0,79	-1,10	-0,59	-0,34	0,00	0,00	0,00	0,38
T109L	-1,19	-0,21	-0,01	-0,05	-0,09	-0,11	-0,01	-0,05	-0,22	0,03	0,16	-0,01	-0,21	-0,42	-0,28	0,24	0,30	-0,01	0,59
T109M	-0,95	-0,17	-0,01	-0,09	-0,13	-0,14	-0,06	-0,06	-0,23	-0,30	-0,23	-0,19	-0,11	-0,35	-0,24	0,24	0,29	0,00	0,60
T109N	-1,25	-0,47	-0,11	-0,43	-0,46	-0,35	0,00	-0,18	-0,52	0,05	-0,13	-0,34	-1,07	-0,46	-0,34	0,00	0,00	0,00	0,20
T109P	-1,29	-0,22	-0,01	-0,33	-0,32	-0,29	-0,28	-0,47	-0,56	-0,85	-0,76	-0,65	-0,50	-0,44	-0,36	0,03	0,07	0,05	0,36
T109Q	-1,00	-0,21	-0,02	-0,08	-0,22	-0,23	-0,04	0,00	-0,15	0,56	0,11	0,31	0,26	-0,47	-0,33	0,13	0,23	0,01	0,47
T109R	-1,16	-0,15	-0,02	-0,30	-0,29	-0,25	-0,15	-0,30	-0,44	-0,52	-0,70	-0,50	-0,44	-0,44	-0,31	0,08	0,16	0,05	0,61
T109S	-0,39	-0,19	-0,01	-0,01	-0,03	-0,05	0,01	0,01	-0,04	-0,07	0,02	-0,14	0,02	-0,39	-0,28	0,09	0,12	0,07	0,51
T109V	0,02	0,59	0,05	-0,03	-0,04	-0,01	0,05	-0,04	0,01	-0,03	0,26	-0,19	-0,19	-0,17	-0,07	0,13	0,19	0,03	0,53
T109W	-1,23	-0,20	-0,01	-0,05	-0,28	-0,25	0,03	-0,10	-0,40	0,09	-0,01	0,04	-0,40	-0,54	-0,40	0,22	0,30	-0,02	0,69
T109Y	-1,21	-0,15	-0,01	-0,12	-0,15	-0,18	-0,07	-0,16	-0,35	0,04	-0,01	-0,08	-0,04	-0,47	-0,34	0,23	0,27	0,00	0,63
T110A	-0,85	-0,14	-0,01	-0,06	-0,14	-0,12	0,01	-0,15	-0,17	0,09	-0,07	-0,15	0,03	-0,50	-0,18	0,18	0,47	0,39	0,55
T110C	-0,77	-0,06	0,01	-0,13	-0,16	-0,14	-0,06	0,01	-0,26	-0,72	-0,62	-0,50	-0,17	-0,34	-0,06	0,18	0,46	0,40	0,61
T110D	-1,09	-0,12	-0,01	-0,22	1,63	-0,25	-0,43	-0,35	-0,61	-1,14	-0,98	-0,78	-0,07	-0,39	-0,12	0,11	0,32	0,28	0,31
T110E	-0,97	-0,13	-0,01	-0,11	-0,20	-0,22	0,01	-0,02	-0,30	-0,70	-0,49	-0,35	-0,03	-0,67	-0,23	0,17	0,47	0,37	0,61
T110F	-1,31	-0,12	-0,01	0,02	-0,14	-0,19	-0,06	-0,03	-0,23	-0,09	-0,16	0,08	-0,26	-0,64	-0,18	0,44	0,56	0,62	0,88
T110G	-1,14	-0,13	-0,01	-0,13	-0,23	-0,22	-0,02	0,00	-0,32	-0,43	-0,30	-0,33	-0,32	-0,71	-0,22	0,18	0,60	0,28	0,65
T110H	-0,81	-0,06	0,00	0,08	-0,05	-0,05	0,02	0,01	-0,18	-0,21	-0,23	-0,05	-0,65	-0,59	-0,18	0,28	0,59	0,56	0,83
T110I	-0,99	-0,13	-0,01	0,03	-0,07	-0,09	0,03	-0,06	-0,17	-0,10	-0,05	0,01	-0,34	-0,57	-0,16	0,28	0,57	0,54	0,81
T110K	-1,30	-0,16	-0,01	-0,25	-0,44	-0,36	-0,08	-0,33	-0,66	-0,68	-0,78	-0,73	-0,68	-0,71	-0,23	0,30	0,52	0,57	1,29
T110L	-1,38	-0,16	0,00	-0,26	-0,41	-0,35	-0,08	-0,25	-0,67	-0,38	-0,19	-0,25	-0,74	-0,69	-0,20	0,23	0,57	0,51	0,64
T110M	-1,42	-0,17	-0,01	-0,19	-0,38	-0,35	-0,18	-0,12	-0,62	-0,25	-0,12	-0,14	-0,81	-0,74	-0,23	0,14	0,37	0,27	0,52
T110N	-1,19	-0,15	-0,01	-0,21	-0,32	-0,30	-0,18	-0,13	-0,59	-0,25	-0,34	-0,31	-0,30	-0,67	-0,20	0,07	0,23	0,16	0,33
T110P	-1,42	-0,16	-0,01	-0,44	-0,46	-0,35	-0,49	-0,61	-0,87	-1,53	-1,23	-1,05	-1,07	-0,69	-0,24	0,07	0,22	0,23	0,47
T110Q	-1,39	-0,15	0,00	-0,30	-0,44	-0,35	-0,15	-0,46	-0,72	-0,53	-0,46	-0,54	-0,85	-0,73	-0,23	0,24	0,63	0,58	0,62
T110R	-1,34	-0,15	-0,01	-0,35	-0,45	-0,35	-0,30	-0,50	-0,80	-1,29	-1,10	-0,99	-0,80	-0,72	-0,20	0,10	0,39	0,36	0,57
T110S	-0,81	-0,09	0,01	-0,14	-0,25	-0,15	-0,02	-0,10	-0,20	-0,33	-0,15	-0,19	-0,42	-0,28	-0,08	0,26	0,63	0,56	0,82
T110V	-0,76	-0,14	-0,01	0,01	-0,10	-0,08	-0,07	-0,04	-0,12	-0,25	-0,05	-0,12	-0,33	-0,56	-0,15	0,26	0,55	0,51	0,66
T110W	-1,02	-0,11	0,00	-0,03	-0,14	-0,13	0,09	0,07	-0,22	-0,22	-0,21	-0,26	-0,22	-0,62	-0,17	0,20	0,52	0,47	0,59
T110Y	-0,72	-0,12	-0,01	0,07	-0,07	-0,07	-0,02	-0,02	-0,15	-0,32	-0,38	-0,13	-0,48	-0,61	-0,16	0,46	0,66	0,66	1,10
G111A	0,04	-0,05	-0,01	0,03	0,04	0,05	0,00	-0,04	0,00	-0,03	-0,12	0,00	0,12	-0,05	-0,07	0,23	0,59	0,49	0,67
G111C	-0,23	-0,08	0,00	0,00	0,01	0,09	-0,03	-0,05	-0,20	-0,14	-0,28	-0,17	0,54	-0,14	-0,06	0,09	0,32	0,24	0,36
G111D	-0,21	-0,01	0,02	0,13	0,18	0,15	-0,04	-0,04	-0,03	-0,63	-0,45	-0,34	-0,44	-0,12	-0,06	0,27	0,50	0,52	0,71
G111E	-0,14	-0,11	0,00	0,12	0,08	0,02	0,11	-0,03	0,00	-0,39	-0,41	-0,24	-0,19	-0,39	-0,26	0,29	0,60	0,60	0,72
G111F	-0,20	-0,06	0,03	-0,13	-0,21	-0,09	-0,05	0,06	-0,09	0,25	0,07	-0,04	0,37	-0,62	-0,27	0,10	0,34	0,28	0,51
G111H	0,10	0,25	0,00	0,02	-0,06	0,00	0,07	-0,04	0,03	-0,11	-0,06	0,13	-0,23	-0,02	0,12	0,30	0,68	0,63	0,88
G111I	-0,47	-0,27	-0,06	-0,04	-0,02	-0,02	0,16	0,05	0,00	0,19	0,15	0,08	-0,26	-0,33	-0,19	0,00	0,00	0,00	0,22
G111K	0,16	-0,02	0,00	0,09	0,04	0,06	0,03	-0,01	0,00	0,53	0,41	0,41	0,37	-0,33	-0,16	0,14	0,39	0,43	0,57
G111L	-0,66	-0,19	-0,01	-0,18	-0,25	-0,20	-0,01	-0,03	-0,25	-0,12	-0,23	-0,19	0,23	-0,69	-0,29	0,16	0,49	0,39	0,49
G111M	-0,49	-0,21	0,01	-0,09	-0,15	-0,10	-0,53	-0,02	0,00	-0,27	-0,09	-0,17	0,17	-0,65	-0,23	0,19	0,34	0,41	0,62

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
G111N	-0,06	0,04	0,02	0,06	0,05	0,08	-0,03	-0,07	0,01	-0,25	-0,20	-0,09	-0,48	-0,10	0,06	0,31	0,61	0,62	0,91
G111P	-0,04	0,00	-0,01	-0,04	-0,01	0,02	-0,02	0,06	0,04	-0,25	-0,17	-0,13	-0,09	-0,03	-0,08	0,23	0,61	0,50	0,63
G111Q	-0,24	-0,19	-0,01	-0,11	-0,08	-0,10	-0,01	-0,06	-0,10	0,01	-0,06	-0,05	0,33	-0,52	-0,24	0,16	0,42	0,32	0,55
G111R	0,03	0,01	0,02	0,07	0,08	0,08	0,19	0,03	0,02	0,39	0,26	0,30	0,08	-0,14	-0,03	0,19	0,51	0,40	0,66
G111S	0,22	0,13	0,00	0,03	0,08	0,12	0,01	-0,04	0,07	0,18	-0,05	0,09	-0,02	0,22	0,20	0,23	0,63	0,49	0,73
G111T	0,02	-0,06	0,00	-0,09	-0,08	-0,05	0,00	-0,06	-0,03	-0,03	-0,21	-0,12	0,27	-0,08	-0,07	0,16	0,49	0,37	0,58
G111V	-0,37	-0,14	0,00	-0,13	-0,12	-0,08	0,01	0,00	-0,10	-0,10	-0,21	-0,14	0,25	-0,54	-0,24	0,14	0,44	0,32	0,54
G111W	-0,12	-0,08	-0,01	-0,05	-0,14	-0,09	0,10	0,04	0,02	0,63	0,31	0,33	0,44	-0,54	-0,22	0,10	0,32	0,21	0,44
G111Y	-0,21	-0,17	-0,01	-0,16	-0,14	-0,07	-0,03	0,01	-0,12	0,41	0,16	0,24	0,48	-0,59	-0,26	0,12	0,31	0,25	0,46
K112A	-0,31	-0,10	-0,02	0,03	-0,05	0,01	0,17	0,04	0,07	-0,44	-0,12	-0,02	-0,31	-0,44	-0,13	0,39	0,25	0,38	0,91
K112C	-0,06	0,22	0,08	0,09	0,11	0,06	-0,01	0,14	-0,02	-0,27	-0,25	-0,23	0,37	0,18	0,12	0,13	0,39	0,23	0,40
K112D	-0,08	-1,05	-0,17	-0,18	-0,23	-0,20	-0,02	0,12	0,14	-0,90	-1,06	-0,80	-0,25	-0,50	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,27
K112E	0,12	-0,78	-0,17	-0,16	-0,23	-0,20	0,10	0,14	0,35	-0,75	-0,95	-0,64	-0,19	-0,42	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,23
K112F	-0,36	-0,12	-0,01	-0,15	-0,14	-0,09	-0,04	-0,03	-0,16	-0,59	-0,35	-0,25	0,31	-0,30	-0,20	0,12	0,32	0,22	0,43
K112G	-0,76	-0,14	-0,02	-0,19	-0,30	-0,26	-0,04	-0,10	-0,17	-0,55	-0,32	-0,20	0,22	-0,60	-0,21	0,13	0,40	0,30	0,45
K112H	0,13	-0,24	-0,06	0,00	0,02	0,01	0,12	0,18	0,33	0,03	-0,01	0,04	0,10	-0,18	-0,12	0,00	0,00	0,00	0,22
K112I	0,02	0,11	0,00	-0,08	-0,03	-0,02	0,02	-0,04	0,03	-0,47	-0,10	-0,11	0,64	0,38	0,19	0,19	0,48	0,39	0,48
K112L	-0,19	-0,10	-0,02	-0,04	-0,06	-0,04	-0,02	0,01	-0,02	-0,50	-0,25	-0,15	0,35	0,05	-0,07	0,15	0,41	0,33	0,43
K112M	-0,03	0,03	0,01	0,10	0,18	0,02	0,02	0,03	0,04	-0,44	-0,10	-0,12	0,32	0,13	0,06	0,14	0,37	0,30	0,35
K112N	-0,29	0,02	-0,02	-0,01	-0,10	-0,13	0,00	0,10	0,15	-0,52	-0,10	-0,02	0,48	-0,53	-0,22	0,12	0,28	0,24	0,35
K112P	-1,15	-0,20	-0,03	-0,50	-0,48	-0,36	-0,24	-0,39	-0,50	-1,11	-0,72	-0,70	-0,55	-0,66	-0,26	0,08	0,30	0,23	0,37
K112Q	-0,09	0,01	0,06	-0,08	-0,04	0,03	-0,09	0,11	-0,09	-0,33	-0,15	-0,05	0,47	-0,01	-0,12	0,15	0,36	0,33	0,43
K112R	-0,22	-0,03	-0,02	0,01	0,10	0,02	0,00	0,05	-0,08	0,04	0,05	-0,07	0,18	-0,25	-0,15	0,14	0,39	0,28	0,49
K112S	0,12	0,01	-0,01	0,02	-0,03	-0,10	0,13	0,10	-0,01	-0,07	-0,16	-0,10	0,50	-0,30	-0,18	0,14	0,36	0,24	0,38
K112T	0,15	0,16	0,17	0,06	0,10	0,02	0,03	0,04	0,07	-0,23	-0,17	0,00	0,51	0,08	-0,03	0,12	0,36	0,20	0,41
K112V	-0,10	0,03	0,02	-0,13	-0,13	-0,04	-0,06	0,03	-0,02	-0,59	-0,31	-0,16	0,19	0,02	0,09	0,20	0,36	0,28	0,52
K112W	-0,43	-0,11	-0,02	-0,12	-0,17	-0,13	-0,03	0,00	-0,02	-0,51	-0,26	-0,16	0,07	-0,40	-0,18	0,15	0,41	0,35	0,50
K112Y	-0,15	-0,01	-0,01	-0,08	-0,08	-0,08	-0,13	-0,05	-0,15	-0,54	-0,25	-0,18	0,34	-0,09	-0,10	0,13	0,39	0,29	0,46
A113C	0,57	-0,34	0,37	0,26	0,03	-0,12	0,16	0,41	0,24	0,09	-0,16	0,44	0,50	-0,06	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,29
A113D	-1,39	-0,30	-0,04	-0,53	-0,54	-0,40	-0,50	-0,50	-0,50	-1,61	-1,47	-1,15	-0,76	-0,76	-0,34	0,02	0,04	0,05	0,26
A113E	-1,38	-0,32	-0,05	-0,56	-0,54	-0,41	-0,43	-0,41	-0,50	-1,59	-1,44	-1,18	-0,75	-0,76	-0,30	0,04	0,05	0,01	0,25
A113F	-1,40	-0,32	-0,04	-0,55	-0,54	-0,41	-0,51	-0,50	-0,50	-1,61	-1,47	-1,18	-0,72	-0,75	-0,32	0,03	0,03	0,03	0,20
A113G	-0,87	-0,17	-0,04	0,16	-0,39	-0,35	0,05	0,10	-0,09	-1,03	0,16	0,17	-0,21	-0,73	-0,29	0,14	0,40	0,29	0,39
A113H	-1,10	-0,47	-0,05	-0,38	-0,36	-0,29	-0,22	-0,48	-0,56	-0,76	-0,64	-0,51	-0,81	-0,37	-0,26	0,00	0,00	0,00	0,18
A113I	-1,10	-0,30	-0,05	-0,28	-0,53	-0,40	0,08	0,07	-0,30	-1,34	-0,43	-0,36	-0,63	-0,73	-0,27	0,19	0,45	0,39	0,60
A113K	-1,31	-0,32	-0,05	-0,56	-0,54	-0,40	-0,30	-0,42	-0,50	-1,54	-1,43	-1,18	-0,73	-0,76	-0,29	0,03	0,04	0,05	0,26
A113L	-1,39	-0,31	-0,05	-0,54	-0,53	-0,39	-0,36	-0,41	-0,50	-1,60	-1,44	-1,18	-0,59	-0,73	-0,28	0,05	0,13	0,18	0,33
A113M	-1,38	-0,31	-0,05	-0,55	-0,54	-0,41	-0,42	-0,45	-0,50	-1,60	-1,42	-1,16	-0,72	-0,75	-0,29	0,08	0,17	0,10	0,37
A113N	-1,08	-0,47	-0,05	-0,37	-0,35	-0,29	-0,25	-0,48	-0,55	-0,75	-0,59	-0,60	-0,81	-0,52	-0,45	0,00	0,00	0,00	0,21
A113P	-1,34	-0,31	-0,04	-0,46	-0,54	-0,41	-0,14	-0,34	-0,46	-1,53	-1,25	-1,07	-0,77	-0,78	-0,31	0,13	0,42	0,31	0,45
A113Q	0,38	-1,24	-0,14	-0,50	-0,52	-0,41	0,35	0,12	-0,15	-0,52	-1,14	-0,99	-1,01	-0,54	-0,34	0,00	0,00	0,00	0,18
A113R	-1,40	-0,31	-0,05	-0,56	-0,54	-0,41	-0,35	-0,38	-0,50	-1,59	-1,41	-1,18	-0,64	-0,74	-0,28	0,04	0,05	0,05	0,25
A113S	-0,57	-0,19	-0,04	-0,07	-0,20	-0,36	-0,03	0,02	-0,17	-0,34	0,00	-0,03	-0,18	-0,73	-0,29	0,14	0,41	0,39	0,51
A113T	-1,02	-0,25	-0,04	-0,15	-0,28	-0,28	-0,02	-0,06	-0,13	-1,07	-0,12	-0,01	-0,08	-0,65	-0,21	0,32	0,54	0,59	0,57
A113V	-0,61	-0,17	-0,04	-0,10	-0,27	-0,32	0,04	0,05	-0,21	-0,59	0,08	0,15	-0,04	-0,71	-0,26	0,15	0,42	0,34	0,38
A113W	-1,40	-0,32	-0,02	-0,47	-0,54	-0,41	-0,50	-0,50	-0,50	-1,61	-1,47	-1,18	-0,67	-0,80	-0,33	0,01	0,01	0,02	0,18
A113Y	-1,40	-0,32	-0,05	-0,56	-0,54	-0,41	-0,28	-0,50	-0,50	-1,61	-1,47	-1,16	-0,76	-0,80	-0,32	0,04	0,09	0,13	0,34
L114A	-0,76	-0,19	-0,02	-0,06	-0,08	-0,08	-0,02	-0,03	-0,14	-0,05	0,04	-0,03	-0,25	-0,27	-0,10	0,13	0,17	0,29	0,39
L114C	-0,46	-0,12	-0,01	-0,02	-0,08	-0,07	0,09	-0,09	-0,16	-0,89	-0,45	-0,29	-0,27	-0,19	-0,08	0,10	0,19	0,31	0,66
L114D	-0,51	-0,20	-0,01	-0,15	-0,15	-0,13	0,06	-0,16	-0,01	-0,76	-0,57	-0,18	-0,09	-0,20	-0,07	0,15	0,18	0,29	0,42
L114E	0,15	0,26	-0,06	0,06	-0,02	-0,07	-0,15	0,20	0,16	0,13	0,34	-0,10	-0,41	-0,06	0,05	0,00	0,00	0,00	0,07
L114F	-0,77	-0,18	-0,02	-0,11	-0,12	-0,12	0,00	0,02	-0,08	-0,18	-0,11	-0,02	-0,29	-0,24	-0,10	0,13	0,20	0,31	0,46
L114G	-1,34	-0,21	-0,02	-0,47	-0,49	-0,38	-0,13	-0,20	-0,63	-0,80	-0,90	-0,72	-0,47	-0,29	-0,12	0,07	0,11	0,00	0,25
L114H	-0,14	-0,09	-0,02	0,18	0,12	0,00	-0,04	0,08	0,01	0,17	0,07	0,39	-0,05	0,11	0,03	0,11	0,26	0,33	0,35
L114I	-0,21	-0,09	-0,01	0,03	0,01	0,00	0,03	0,04	0,08	0,12	0,22	0,33	-0,01	0,01	-0,02	0,13	0,23	0,35	0,40
L114K	-1,32	-0,20	-0,02	-0,37	-0,46	-0,37	-0,12	-0,31	-0,70	-0,85	-0,62	-0,68	-0,49	-0,26	-0,10	0,07	0,08	0,18	0,34
L114M	-0,43	-0,11	-0,01	-0,09	-0,09	-0,09	-0,19	0,14	-0,12	-0,45	-0,30	0,04	-0,19	-0,27	-0,11	0,15	0,22	0,37	0,63
L114N	-0,94	-0,21	-0,02	-0,03	-0,15	-0,13	-0,14	-0,05	-0,06	0,32	0,40	0,26	-0,38	-0,32	-0,16	0,09	0,14	0,25	0,37
L114P	-0,01	0,01	0,01	0,05	0,04	0,08	0,04	-0,01	0,02	-0,39	-0,30	-0,06	0,13	0,26	0,11	0,20	0,30	0,46	0,57
L114Q	-0,35	-0,18	-0,02	-0,04	-0,10	-0,09	-0,02	0,03	-0,06	-0,40	-0,31	0,00	-0,29	-0,23	-0,09	0,15	0,28	0,37	0,48
L114R	-1,29	-0,22	-0,02	-0,42	-0,47	-0,36	-0,21	-0,35	-0,65	-0,99	-0,81	-0,64	-0,50	-0,25	-0,12	0,07	0,09	0,15	0,34
L114S	-1,19	-0,18	-0,02	-0,07	-0,23	-0,23	-0,04	-0,03	-0,26	-0,32	-0,25	-0,11	-0,44	-0,24	-0,10	0,13	0,19	0,29	0,39
L114T	-1,01	-0,21	-0,02	-0,10	-0,20	-0,17	-0,13	-0,08	-0,24	-0,26	-0,16	-0,02	-0,38	-0,27	-0,09	0,11	0,24	0,34	0,44
L114V	-0,11	-0,15	-0,01	0,02	0,02	0,05	0,12	0,10	0,11	-0,09	0,23	0,21	-0,02	-0,14	-0,06	0,17	0,19	0,38	0,45
L114W	0,21	0,06	-0,11	0,08	0,05	0,09	-0,04	0,12	0,22	0,49	0,50	0,54	0,06	-0,28	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,30
L114Y	-0,70	-0,17	-0,01	-0,04	-0,05	-0,02	0,06	-0,04	-0,12	-0,27	-0,16	-0,12	0,10	-0,16	-0,07	0,16	0,28	0,46	0,47
P115A	-0,52	-0,23	-0,02	-0,05	-0,01	-0,04	-0,10	-0,07	-0,22	-0,55	-0,02	0,01	-0,21	-0,88	-0,30	0,07	0,15	0,13	0,16
P115C	-0,60	-0,23	0,05	-0,05	-0,04	-0,10	0,03	0,04	0,15	0,21	-0,20	-0,11	-0,37	-0,98	-0,29	0,06	0,15	0,11	0,16
P115D	-1,19	-0,27	-0,02	-0,11	-0,19	-0,25	0,05	-0,12	-0,25	-0,55	-0,37	-0,02	-0,51	-1,06	-0,31	0,08	0,20	0,17	0,16
P115E	-1,00	-0,25	-0,01	-0,13	-0,17	-0,21	-0,10	-0,05	-0,10	-0,64	-0,65	-0,53	-0,72	-0,94	-0,28	0,04	0,09	0,07	0,15
P115F	-1,46	-0,30	-0,02	-0,27	-0,32	-0,34	-0,24	-0,16	-0,29	-0,59	-0,16	-0,20	-1,58	-1,18	-0,38	0,03	0,07	0,06	0,11
P115G	-1,04	-0,32	-0,02	-0,10	-0,11	-0,16	-0,16	-0,08	-0,30	-0,21	-0,13	-0,12	-0,75	-1,10	-0,32	0,05	0,13	0,02	0,18
P115H	-0,95	-0,28	-0,02	0,00	-0,06	-0,14	0,00	0,01	-0,24	0,21	0,15	0,65	-0,64	-1,01	-0,28	0,07	0,15	0,14	0,17
P115I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,06	0,04	0,08
P115K	-0,33	-0,14	0,03	-0,04	-0,04	-0,01	-0,08	-0,09	-0,05	-0,50	0,04	-0,24	-0,29	-0,90	-0,30	0,09	0,29	0,19	0,28
P115L	-1,15	-0,31	-0,02	-0,28	-0,24	-0,26	-0,21	-0,25	-0,34	-1,04	-0,82	-0,72	-1,44	-1,17	-0,40	0,02	0,10	0,04	0,18
P115M	-1,00	-0,25	-0,02	-0,12	-0,12	-0,13	-0,04	-0,23	-0,26	-0,18	-0,27	-0,36	-0,84	-1,03	-0,33	0,06	0,13	0,12	0,19
P115N	-0,91	-0,30	-0,02	-0,07	-0,08	-0,13	0,03	0,00	-0,20	0,07	-0,23	-0,25	-0,72	-1,07	-0,33	0,05	0,12	0,09	0,17
P115Q	-0,65	-0,30	-0,02	0,13	0,07	0,05	-0,21	0,30	0,43	0,90	0,51	0,71	0,20	-1,02	-0,25	0,05	0,10	0,06	0,10
P115R	-0,60	-0,24	-0,02	0,04	-0,06	0,04	0,01	0,04	-0,21	0,45	0,49	0,08	0,07	-0,97	-0,29	0,07	0,19	0,15	0,21
P115S	-0,80	-0,23	-0,01	-0,08	-0,11	-0,08	-0,02	-0,13	-0,12	-0,13	-0,49	0,08	-0,50	-1,02	-0,32	0,06	0,12	0,11	0,17
P115T	-0,25	-0,18	-0,01	-0,07	-0,05	-0,15	-0,06	0,00	-0,06	-0,08	-0,08	-0,12	-0,32	-0,89	-0,29	0,07	0,17	0,12	0,19
P115V	-1,03	-0,25	-0,02	-0,25	-0,21	-0,25	-0,33	-0,45	-0,37	-0,90	-0,90	-0,66	-1,09	-1,02	-0,44	0,02	0,02	0,01	0,10
P115W	0,06	-1,04	-0,15	-0,09	-0,19	-0,21	-0,04	-0,02	-0,25	0,22	0,44	0,34	-0,55	-0,53	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,29
P115Y	-1,34	-0,28	-0,02	-0,27	-0,26	-0,31	-0,06	-0,29	-0,36	-0,38	-0,76	-0,51	-1,26	-1,07	-0,30	0,04	0,07	0,06	0,14
G116A	-1,35	-0,15	-0,01	-0,46	-0,50	-0,37	-0,30	-0,35	-0,55	-1,44	-1,30	-1,14	-0,51	-0,30	-0,16	0,13	0,25	0,36	0,59
G116C	-1,37	-0,15	-0,01	-0,50	-0,50	-0,38	-0,43	-0,49	-0,56	-1,55	-1,38	-1,17	-0,56	-0,37	-0,19	0,04	0,03	0,05	0,39
G116D	-1,38	-0,12	-0,01	-0,48	-0,49	-0,38	-0,43	-0,41	-0,56	-1,54	-1,28	-1,18	-0,53	-0,38	-0,19	0,04	0,02	0,05	0,42
G116E	-1,38	-0,15	-0,01	-0,49	-0,50	-0,38	-0,39	-0,52	-0,56	-1,59	-1,40	-1,18	-0,51	-0,34	-0,17	0,03	0,01	0,03	0,25
G116F	-1,37	-0,15	-0,01	-0,50	-0,49	-0,37	-0,30	-0,52	-0,56	-1,57	-1,37	-1,18	-0,53	-0,34	-0,17	0,04	0,02	0,04	0,34
G116H	-1,36	-0,15	-0,01	-0,50	-0,50	-0,38	-0,20	-0,48	-0,56	-1,54	-1,37	-1,18	-0,53	-0,34	-0,17	0,07	0,06	0,08	0,43
G116I	-1,38	-0,15	-0,01	-0,49	-0,50	-0,38	-0,48	-0,52	-0,56	-1,57	-1,39	-1,19	-0,55	-0,34	-0,20	0,03	0,02	0,02	0,28
G116K	-1,38	-0,15	-0,01	-0,49	-0,50	-0,37	-0,37	-0,50	-0,56	-1,60	-1,38	-1,19	-0,48	-0,31	-0,17	0,04	0,01	0,04	0,26
G116L	-1,38	-0,15	-0,01	-0,50	-0,50	-0,38	-0,52	-0,52	-0,56	-1,57	-1,39	-1,20	-0,53	-0,35	-0,19	0,04	0,03	0,03	0,28
G116M	-0,36	-1,36	-0,13	-0,31	-0,32	-0,28	-0,16	-0,33	-0,43	-0,51	-0,94	-0,78	-0,93	-0,67	-0,42	0,00	0,00	0,00	0,13
G116N	-1,36	-0,15	-0,01	-0,50	-0,50	-0,37	-0,33	-0,40	-0,56	-1,55	-1,35	-1,18	-0,54	-0,35	-0,19	0,06	0,04	0,08	0,49
G116P	-1,37	-0,15	-0,01	-0,49	-0,50	-0,37	-0,30	-0,42	-0,56	-1,53	-1,36	-1,18	-0,51	-0,34	-0,16	0,06	0,07	0,14	0,51
G116Q	-1,37	-0,15	-0,01	-0,50	-0,50	-0,38	-0,35	-0,43	-0,56	-1,60	-1,38	-1,17	-0,54	-0,34	-0,18	0,05	0,03	0,06	0,43
G116R	-1,38	-0,15	-0,01	-0,50	-0,50	-0,37	-0,42	-0,49	-0,56	-1,57	-1,38	-1,19	-0,52	-0,37	-0,18	0,03	0,01	0,03	0,28
G116S	-1,25	-0,13	-0,01	-0,38	-0,49	-0,37	0,04	-0,13	-0,49	-0,81	-0,83	-0,86	-0,51	-0,33	-0,17	0,17	0,30	0,45	0,66

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
G116T	-1,38	-0,15	-0,01	-0,49	-0,50	-0,37	-0,37	-0,42	-0,56	-1,57	-1,37	-1,18	-0,52	-0,34	-0,18	0,06	0,05	0,10	0,51
G116V	-1,38	-0,15	-0,01	-0,49	-0,50	-0,37	-0,39	-0,52	-0,56	-1,60	-1,39	-1,19	-0,51	-0,33	-0,17	0,04	0,03	0,05	0,32
G116W	-1,38	-0,15	-0,01	-0,41	-0,50	-0,37	-0,37	-0,49	-0,46	-1,59	-1,40	-1,18	-0,50	-0,35	-0,19	0,04	0,04	0,03	0,26
G116Y	-1,36	-0,15	-0,01	-0,50	-0,50	-0,37	-0,36	-0,44	-0,56	-1,54	-1,37	-1,17	-0,51	-0,36	-0,20	0,07	0,05	0,10	0,57
T117A	-0,53	-0,17	-0,02	-0,05	-0,08	-0,10	0,02	0,02	-0,18	0,00	0,18	-0,05	0,00	-0,17	-0,06	0,09	0,09	0,21	0,39
T117C	0,04	-0,16	-0,02	0,04	0,04	0,00	0,18	0,03	-0,05	-0,09	-0,08	-0,18	0,15	0,01	-0,01	0,08	0,07	0,15	0,38
T117D	-0,21	-0,16	-0,02	0,03	0,11	-0,04	0,08	0,00	-0,04	-0,26	-0,05	-0,15	0,13	-0,04	-0,01	0,08	0,08	0,16	0,40
T117E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,07
T117F	-0,80	-0,22	-0,02	-0,12	-0,17	-0,17	-0,08	-0,05	-0,26	-0,21	-0,20	-0,15	-0,07	-0,22	-0,07	0,07	0,07	0,19	0,32
T117G	-0,79	-0,18	-0,02	-0,06	-0,11	-0,14	-0,11	-0,03	-0,16	-0,04	0,05	0,05	0,03	-0,19	-0,07	0,12	0,12	0,13	0,46
T117H	-0,13	-0,16	-0,02	0,00	0,01	-0,03	0,04	0,08	-0,03	-0,05	0,11	0,11	0,20	-0,12	-0,06	0,16	0,17	0,34	0,60
T117I	-0,49	-0,20	-0,02	-0,02	-0,04	-0,06	-0,09	0,02	-0,03	0,03	0,21	0,13	-0,10	-0,20	-0,07	0,08	0,08	0,18	0,44
T117K	-0,45	-0,16	-0,03	0,06	-0,02	-0,09	-0,16	-0,04	-0,17	0,40	0,50	0,12	0,24	-0,18	-0,06	0,11	0,12	0,26	0,49
T117L	-0,59	-0,18	-0,02	-0,09	-0,08	-0,13	-0,08	0,00	-0,14	-0,08	0,00	-0,04	-0,13	-0,21	-0,08	0,11	0,12	0,23	0,44
T117M	-0,60	-0,21	-0,02	-0,05	-0,10	-0,10	0,02	-0,02	-0,13	-0,01	0,09	-0,04	-0,17	-0,22	-0,09	0,14	0,13	0,27	0,65
T117N	0,64	-0,16	-0,01	0,25	0,24	0,11	0,33	0,41	0,14	0,83	0,31	0,26	0,71	0,14	0,06	0,08	0,07	0,17	0,15
T117P	-0,79	-0,18	-0,02	0,01	-0,10	-0,15	0,09	0,13	0,01	0,12	0,07	0,13	0,02	-0,23	-0,09	0,19	0,19	0,40	0,72
T117Q	-0,56	-0,20	0,03	-0,03	-0,10	-0,13	-0,01	0,00	-0,08	0,16	0,16	0,11	0,08	-0,18	-0,04	0,10	0,10	0,21	0,43
T117R	-0,69	-0,17	-0,02	0,06	-0,08	-0,07	0,00	0,11	-0,09	0,08	0,32	0,14	0,09	-0,20	-0,06	0,27	0,28	0,48	0,71
T117S	-0,35	-0,08	-0,01	-0,07	-0,08	-0,09	-0,10	-0,01	-0,20	-0,30	-0,20	-0,14	-0,08	-0,18	-0,05	0,09	0,08	0,21	0,42
T117V	-0,71	-0,14	0,00	-0,14	-0,14	-0,15	0,03	-0,04	-0,14	-0,30	-0,12	-0,08	-0,23	-0,22	-0,08	0,02	0,01	0,05	0,31
T117W	-0,73	-0,20	0,00	-0,10	-0,17	-0,22	-0,16	-0,12	-0,37	-0,23	-0,17	-0,26	-0,02	-0,19	-0,08	0,07	0,07	0,14	0,28
T117Y	-0,09	-0,69	-0,13	-0,07	-0,06	-0,12	0,04	0,08	-0,04	0,53	0,69	0,39	-0,10	-0,49	-0,28	0,00	0,00	0,00	0,31
D118A	-1,20	-0,21	-0,01	-0,25	-0,35	-0,29	-0,13	-0,21	-0,36	-0,15	-0,06	-0,08	-0,20	-0,16	-0,07	0,12	0,11	0,22	0,50
D118C	-0,57	-0,26	-0,06	-0,02	-0,06	-0,09	0,14	0,04	-0,01	0,71	0,46	0,31	-0,29	-0,24	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,31
D118E	-1,11	-0,20	-0,01	-0,26	-0,31	-0,28	-0,06	-0,14	-0,35	-0,10	-0,13	-0,22	-0,13	-0,16	-0,06	0,08	0,07	0,17	0,49
D118F	-1,15	-0,21	-0,01	-0,35	-0,36	-0,34	-0,02	-0,16	-0,46	-0,51	-0,51	-0,34	-0,24	-0,16	-0,07	0,11	0,09	0,22	0,47
D118G	-1,28	-0,20	-0,01	-0,36	-0,42	-0,34	-0,08	-0,18	-0,50	-0,50	-0,40	-0,45	-0,25	-0,17	-0,07	0,10	0,09	0,18	0,55
D118H	-0,86	-0,10	-0,01	-0,06	-0,30	-0,31	0,04	0,14	-0,28	0,14	0,05	-0,04	-0,22	-0,16	-0,06	0,11	0,07	0,24	0,47
D118I	-0,10	-1,27	-0,14	-0,12	-0,20	-0,26	0,02	-0,06	-0,32	0,32	0,20	0,20	-0,98	-0,55	-0,32	0,00	0,00	0,00	0,44
D118K	-1,28	-0,21	-0,01	-0,44	-0,42	-0,34	-0,22	-0,24	-0,53	-0,96	-0,78	-0,68	-0,26	-0,18	-0,07	0,07	0,04	0,11	0,55
D118L	-1,10	-0,20	-0,01	-0,24	-0,38	-0,33	-0,06	-0,07	-0,44	0,32	0,14	0,00	-0,26	-0,17	-0,08	0,09	0,09	0,20	0,47
D118M	-1,26	-0,20	-0,01	-0,25	-0,35	-0,32	0,00	-0,15	-0,52	-0,15	-0,03	-0,22	-0,27	-0,17	-0,07	0,09	0,08	0,19	0,59
D118N	-1,13	-0,20	0,00	-0,16	-0,28	-0,25	-0,02	-0,04	-0,37	-0,03	-0,11	-0,06	-0,22	-0,16	-0,07	0,15	0,14	0,30	0,69
D118P	-1,32	-0,21	-0,01	-0,48	-0,43	-0,34	-0,23	-0,35	-0,55	-1,18	-0,95	-0,78	-0,26	-0,17	-0,07	0,05	0,03	0,08	0,46
D118Q	-1,19	-0,21	-0,01	-0,26	-0,35	-0,32	-0,04	-0,17	-0,43	-0,12	-0,12	-0,17	-0,24	-0,16	-0,06	0,11	0,09	0,24	0,51
D118R	-1,29	-0,21	-0,01	-0,35	-0,42	-0,33	0,00	-0,23	-0,51	-0,56	-0,34	-0,34	-0,26	-0,17	-0,08	0,11	0,05	0,22	0,62
D118S	-0,84	-0,06	-0,01	-0,03	-0,18	-0,22	0,11	0,01	-0,16	0,79	0,48	0,47	-0,21	-0,17	-0,07	0,13	0,11	0,26	0,50
D118T	-1,18	-0,20	-0,01	-0,21	-0,31	-0,30	-0,05	-0,11	-0,45	-0,05	-0,02	-0,10	-0,23	-0,16	-0,07	0,11	0,10	0,22	0,54
D118V	-1,13	-0,20	-0,01	-0,14	-0,28	-0,27	-0,08	-0,08	-0,30	0,14	0,11	0,02	-0,24	-0,17	-0,07	0,11	0,11	0,26	0,54
D118W	-1,24	-0,20	-0,01	-0,36	-0,38	-0,33	-0,13	-0,09	-0,42	-0,45	-0,49	-0,36	-0,23	-0,16	-0,06	0,08	0,07	0,15	0,42
D118Y	-0,05	-1,20	-0,13	-0,12	-0,21	-0,23	0,10	-0,06	-0,30	0,58	0,56	0,30	-0,80	-0,54	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,37
P119A	-0,29	-0,13	-0,01	-0,01	-0,03	-0,02	0,11	0,03	0,03	0,20	0,09	0,07	0,26	-0,40	-0,31	0,16	0,49	0,36	0,45
P119C	0,00	-0,13	-0,11	0,01	0,05	0,04	0,08	0,04	0,10	0,30	0,36	0,35	0,07	-0,46	-0,27	0,00	0,00	0,00	0,41
P119D	-0,57	-0,14	-0,02	-0,06	-0,10	-0,10	-0,30	-0,03	-0,18	-0,07	-0,13	-0,16	0,01	-0,80	-0,39	0,09	0,29	0,28	0,36
P119E	-0,34	-0,15	0,02	-0,04	-0,05	-0,07	-0,10	-0,06	-0,07	-0,18	0,21	-0,21	0,53	-0,67	-0,44	0,11	0,36	0,30	0,38
P119F	-0,35	-0,15	-0,01	0,07	-0,02	0,02	0,07	0,09	0,02	0,50	0,28	0,42	0,45	-0,81	-0,43	0,14	0,46	0,35	0,37
P119G	-0,67	-0,14	-0,01	-0,06	-0,09	-0,09	0,02	-0,11	-0,33	-0,06	0,38	0,10	-0,15	-0,82	-0,43	0,17	0,52	0,35	0,50
P119H	-0,13	-0,07	-0,01	0,07	-0,03	0,00	0,11	0,13	0,02	0,62	0,23	0,33	-0,25	-0,68	-0,36	0,19	0,52	0,35	0,49
P119I	-0,29	-0,03	0,01	-0,03	-0,03	-0,06	0,01	-0,05	0,00	0,02	0,01	-0,05	-0,09	-0,57	-0,34	0,14	0,45	0,34	0,46
P119K	-0,06	-0,11	-0,02	0,12	0,05	0,08	0,23	0,09	0,22	0,63	0,34	0,51	0,31	-0,57	-0,38	0,13	0,44	0,35	0,38
P119L	-0,47	-0,10	-0,01	-0,06	-0,08	-0,08	-0,09	-0,13	-0,19	0,02	0,09	-0,20	-0,20	-0,54	-0,34	0,14	0,45	0,36	0,40
P119M	-0,50	-0,07	0,05	-0,16	-0,14	-0,12	-0,01	-0,06	-0,23	-0,16	-0,31	-0,27	-0,19	-0,51	-0,40	0,18	0,41	0,35	0,59
P119N	-0,81	-0,14	-0,02	-0,12	-0,21	-0,19	-0,36	-0,44	-0,48	-0,29	-0,52	-0,39	-0,23	-0,82	-0,47	0,05	0,18	0,15	0,21
P119Q	-0,22	-0,14	-0,01	0,16	0,10	0,09	0,23	0,10	0,21	0,90	0,48	0,71	0,20	-0,66	-0,35	0,13	0,48	0,38	0,39
P119R	-0,23	-0,11	0,00	0,04	-0,04	0,04	0,11	-0,04	-0,11	0,14	0,64	0,42	0,04	-0,48	-0,35	0,16	0,48	0,35	0,46
P119S	-0,22	-0,12	-0,01	0,07	0,00	0,02	0,05	-0,03	0,04	0,41	0,15	0,27	-0,57	-0,62	-0,36	0,23	0,54	0,32	0,60
P119T	-0,30	-0,13	-0,01	0,00	-0,03	-0,02	0,01	-0,04	-0,07	0,08	0,12	0,13	-0,10	-0,64	-0,34	0,18	0,55	0,38	0,51
P119V	-0,15	-0,12	-0,01	0,00	-0,02	-0,02	-0,15	-0,06	-0,06	0,03	0,24	0,19	-0,03	-0,56	-0,36	0,14	0,44	0,33	0,40
P119W	-0,84	-0,14	-0,01	-0,09	-0,09	-0,12	-0,13	-0,17	-0,29	-0,24	-0,09	-0,33	0,19	-0,71	-0,33	0,14	0,41	0,32	0,44
P119Y	0,00	-0,25	-0,06	0,01	0,01	-0,01	0,20	0,09	0,09	0,66	0,44	0,28	-0,11	-0,24	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,36
N120A	-0,41	0,01	0,01	-0,16	-0,03	-0,13	-0,07	-0,08	0,09	-0,37	0,26	-0,18	0,10	0,02	0,01	0,09	0,08	0,18	0,44
N120C	-0,34	0,02	0,00	0,00	0,00	-0,02	0,10	0,04	-0,02	-0,43	-0,24	-0,13	-0,12	-0,04	-0,01	0,06	0,05	0,11	0,23
N120D	0,63	0,03	-0,02	0,55	0,10	-0,01	0,00	0,44	0,43	0,29	0,22	-0,05	0,07	0,18	0,07	0,06	0,06	0,15	0,25
N120E	0,06	0,11	-0,09	-0,01	0,00	0,01	0,13	0,12	0,03	0,21	0,10	-0,06	0,00	-0,26	-0,19	0,00	0,00	0,00	0,31
N120F	-0,20	0,16	-0,01	-0,03	0,00	0,06	0,14	0,07	0,07	-0,21	-0,08	0,16	-0,17	-0,11	-0,04	0,17	0,15	0,33	0,53
N120G	-0,16	-0,07	-0,01	-0,02	0,01	-0,05	-0,02	0,02	-0,09	0,08	0,08	-0,10	0,10	-0,04	-0,01	0,07	0,09	0,00	0,38
N120H	-0,11	0,06	0,01	-0,05	-0,02	-0,06	0,02	-0,06	0,05	-0,01	-0,03	0,00	0,15	0,15	0,07	0,09	0,09	0,21	0,44
N120I	-0,23	-0,04	0,00	-0,04	0,01	-0,05	-0,02	0,11	0,03	0,22	0,27	0,00	0,20	0,04	0,02	0,07	0,07	0,16	0,33
N120K	-0,33	-0,02	0,01	0,07	-0,09	-0,10	-0,18	-0,03	-0,18	-0,14	-0,06	-0,09	0,07	0,13	0,03	0,04	0,04	0,08	0,15
N120L	-0,14	0,01	0,00	-0,03	0,04	-0,01	0,04	0,01	-0,04	-0,08	-0,02	0,05	-0,02	-0,04	0,00	0,10	0,08	0,18	0,39
N120M	-0,17	-0,02	0,00	-0,07	0,02	-0,08	-0,03	0,00	-0,06	-0,34	-0,21	-0,02	-0,05	-0,03	0,00	0,08	0,09	0,19	0,42
N120P	-0,98	-0,18	0,00	-0,18	-0,13	-0,19	0,02	0,04	-0,19	-0,47	-0,39	-0,15	-0,25	-0,16	-0,04	0,07	0,06	0,11	0,36
N120Q	-0,06	-0,05	-0,01	-0,05	0,03	-0,06	-0,08	0,06	0,04	0,07	-0,02	-0,13	0,24	0,11	0,04	0,07	0,07	0,20	0,40
N120R	0,01	-0,14	-0,10	-0,02	-0,04	-0,01	0,02	0,06	0,04	0,24	0,09	0,23	0,08	-0,41	-0,25	0,00	0,00	0,00	0,53
N120S	0,06	-0,05	0,00	0,10	0,08	0,01	0,12	0,10	0,11	0,16	0,27	0,08	0,26	0,04	0,00	0,07	0,07	0,15	0,30
N120T	-0,19	-0,02	0,01	-0,05	-0,04	-0,08	-0,03	0,11	-0,07	-0,11	0,04	0,01	0,02	0,05	0,01	0,07	0,08	0,18	0,41
N120V	-0,16	-0,11	0,00	-0,04	-0,01	-0,05	-0,05	0,04	-0,09	-0,30	-0,25	-0,16	0,25	0,02	0,03	0,06	0,07	0,15	0,31
N120W	-0,26	-0,12	0,00	-0,09	0,03	-0,02	0,00	-0,03	-0,01	-0,07	-0,13	-0,14	-0,10	-0,11	-0,03	0,06	0,06	0,13	0,35
N120Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,02	0,03	0,10
Q121A	-0,11	0,05	-0,08	-0,03	-0,02	0,01	0,03	-0,01	0,08	0,24	0,08	0,06	-0,01	-0,34	-0,20	0,00	0,00	0,00	0,39
Q121C	-0,25	-0,09	-0,01	0,05	0,08	0,06	0,06	-0,02	-0,06	0,03	-0,13	0,16	0,23	-0,07	0,00	0,06	0,06	0,14	0,25
Q121D	-0,59	-0,12	0,03	-0,02	-0,10	-0,12	0,00	-0,08	-0,26	-0,21	-0,27	0,06	0,02	-0,26	-0,07	0,09	0,09	0,20	0,28
Q121E	-0,28	-0,07	0,00	-0,04	0,01	-0,02	0,04	-0,03	-0,08	-0,37	-0,28	-0,01	0,25	-0,14	-0,04	0,09	0,08	0,17	0,30
Q121F	0,02	-0,06	-0,01	0,01	0,00	0,00	0,02	-0,03	0,02	0,02	0,01	-0,08	-0,04	-0,16	-0,05	0,05	0,05	0,12	0,17
Q121G	-0,32	-0,07	0,01	-0,07	-0,07	-0,03	-0,04	-0,14	-0,06	-0,14	-0,19	0,07	0,13	-0,15	-0,04	0,07	0,08	0,16	0,34
Q121H	-0,12	-0,06	0,00	-0,04	0,00	-0,01	0,04	0,10	0,01	-0,18	0,01	0,19	0,27	0,08	0,02	0,11	0,09	0,19	0,35
Q121I	-1,19	-0,16	0,03	-0,29	-0,20	-0,12	0,02	-0,12	-0,54	-0,96	-0,71	-0,43	0,03	-0,19	-0,03	0,03	0,02	0,04	0,13
Q121K	-0,21	-0,09	-0,01	-0,03	-0,11	-0,02	0,04	0,00	-0,06	-0,26	0,02	0,25	0,12	-0,17	-0,03	0,10	0,10	0,21	0,33
Q121L	-0,42	-0,15	-0,02	0,03	-0,07	-0,05	-0,12	0,12	-0,02	0,28	0,00	0,01	-0,11	-0,28	-0,02	0,06	0,04	0,10	0,18
Q121M	-0,07	0,04	-0,09	-0,05	-0,03	-0,03	-0,06	0,09	0,04	0,05	0,10	0,03	0,02	-0,38	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,38
Q121N	-0,32	-0,14	0,00	0,03	-0,04	0,00	0,07	0,06	0,14	0,21	0,16	0,39	0,27	-0,06	-0,01	0,08	0,08	0,16	0,30
Q121P	-1,62	-0,18	-0,02	-0,46	-0,44	-0,38	-0,22	-0,38	-0,88	-0,89	-0,82	-0,30	-0,35	-0,27	-0,06	0,04	0,03	0,07	0,22
Q121R	-0,02	-0,05	-0,01	0,07	-0,02	0,04	0,05	0,02	0,04	0,15	0,14	0,38	0,16	-0,05	-0,02	0,09	0,09	0,20	0,33
Q121S	-0,41	-0,09	0,00	-0,07	-0,03	-0,03	0,03	0,01	-0,05	-0,20	-0,15	0,15	0,09	-0,12	-0,02	0,09	0,07	0,16	0,30
Q121T	-0,28	-0,12	-0,01	0,00	-0,03	-0,04	0,03	-0,04	-0,02	-0,02	-0,02	0,14	0,05	-0,19	-0,03	0,07	0,07	0,15	0,24
Q121V	-0,49	-0,13	-0,02	-0,06	-0,07	-0,08	0,01	-0,10	-0,21	-0,23	-0,29	0,04	-0,14	-0,21	-0,04	0,06	0,07	0,15	0,34
Q121W	-0,92	0,02	-0,02	-0,14	-0,19	-0,12	-0,19	-0,29	-0,46	-0,30	-0,47	-0,15	0,03	0,00	0,10	0,02	0,02	0,05	0,12
Q121Y	-0,20	-0,09	0,01	-0,05	-0,14	-0,03	-0,08	-0,05	-0,23	-0,27	-0,25	-0,01	-0,21	-0,13	-0,02	0,06	0,05	0,11	0,23
K122A	-0,98	-0,16	0,04	-0,02	-0,04	-0,10	0,04	-0,04	-0,12	-0,31	-0,21	-0,38	-0,14	-0,69	0,00	0,07	0,22	0,18	0,31

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
K122C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
K122D	-0,08	-1,20	-0,14	-0,24	-0,30	-0,29	0,20	0,08	-0,35	0,32	-0,19	-0,19	-0,80	-0,55	-0,30	0,00	0,00	0,00	0,26
K122E	-1,40	-0,24	-0,02	-0,20	-0,35	-0,33	-0,04	-0,06	-0,21	-0,31	-0,40	-0,25	-0,32	-0,62	0,00	0,10	0,31	0,26	0,39
K122F	0,03	-1,01	-0,12	-0,13	-0,18	-0,23	-0,02	-0,02	-0,31	-0,03	-0,21	-0,32	-0,43	-0,55	-0,32	0,00	0,00	0,00	0,28
K122G	-1,45	-0,26	-0,02	-0,13	-0,31	-0,34	0,02	-0,07	-0,45	-0,21	-0,45	-0,34	-0,61	-0,62	0,00	0,08	0,27	0,09	0,33
K122H	-0,87	-0,24	-0,01	-0,09	-0,17	-0,17	-0,11	-0,26	-0,29	-0,32	-0,36	-0,37	-0,33	-0,73	0,00	0,09	0,27	0,22	0,41
K122I	0,06	-0,35	-0,12	-0,04	-0,04	-0,07	-0,01	0,15	0,00	0,17	-0,39	-0,29	0,05	-0,43	-0,27	0,00	0,00	0,00	0,29
K122L	-0,81	-0,24	-0,01	-0,06	-0,11	-0,15	-0,09	-0,06	-0,19	-0,33	-0,31	-0,44	-0,01	-0,63	0,00	0,08	0,24	0,20	0,35
K122M	-0,67	-0,23	-0,01	-0,01	-0,04	-0,14	-0,10	-0,10	-0,08	-0,25	-0,26	-0,25	0,12	-0,63	0,00	0,08	0,23	0,19	0,32
K122N	-1,16	-0,26	-0,02	0,01	-0,09	-0,18	0,06	0,13	-0,10	-0,08	-0,16	-0,13	-0,25	-0,80	0,00	0,07	0,23	0,17	0,30
K122P	-0,57	-0,22	-0,02	-0,01	-0,02	-0,04	0,00	-0,05	-0,12	-0,28	-0,19	-0,28	0,18	-0,44	0,00	0,10	0,28	0,23	0,38
K122Q	-1,30	-0,25	-0,02	-0,14	-0,21	-0,25	-0,12	-0,06	-0,26	-0,15	-0,17	-0,32	-0,28	-0,67	0,00	0,07	0,24	0,19	0,37
K122R	-0,40	-0,20	-0,02	0,07	-0,01	0,00	-0,01	-0,02	-0,04	0,18	0,05	0,01	-0,14	-0,39	0,00	0,16	0,51	0,38	0,53
K122S	-1,03	-0,23	-0,02	-0,01	-0,07	-0,15	-0,06	-0,03	-0,09	-0,19	-0,17	-0,26	-0,18	-0,61	0,00	0,08	0,25	0,21	0,36
K122T	-0,85	-0,24	-0,02	0,02	-0,08	-0,07	0,03	0,05	-0,07	-0,33	-0,16	-0,28	0,56	-0,62	0,00	0,08	0,26	0,21	0,27
K122V	-0,67	-0,22	-0,01	-0,06	-0,06	-0,13	-0,08	-0,07	-0,12	-0,26	-0,38	-0,39	-0,11	-0,53	0,00	0,06	0,21	0,18	0,32
K122W	-1,35	-0,25	-0,01	-0,12	-0,24	-0,30	-0,11	-0,03	-0,23	-0,28	-0,37	-0,44	-0,52	-0,73	0,00	0,11	0,39	0,29	0,47
K122Y	0,03	-0,88	-0,12	-0,10	-0,14	-0,17	0,17	0,03	-0,10	-0,01	-0,28	-0,32	-0,55	-0,71	-0,46	0,00	0,00	0,00	0,28
I123A	-1,35	-0,23	0,00	-0,41	-0,39	-0,32	-0,16	-0,26	-0,60	-0,86	-0,88	-0,77	-1,15	-0,70	0,07	0,07	0,30	0,24	0,36
I123C	-1,33	-0,27	0,00	-0,34	-0,39	-0,32	-0,02	-0,06	-0,59	-0,27	-0,45	-0,29	-1,07	-0,65	-0,31	0,09	0,30	0,25	0,39
I123D	-1,12	-0,28	-0,02	-0,40	-0,36	-0,23	-0,16	-0,30	-0,42	-0,95	-0,98	-0,81	-1,07	-0,51	-0,08	0,03	0,12	0,10	0,12
I123E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,06
I123F	-1,42	-0,30	-0,02	-0,42	-0,41	-0,15	-0,13	-0,47	-0,59	-1,18	-1,12	-0,99	-0,39	-0,56	-0,38	0,00	0,00	0,03	0,18
I123G	-0,91	-0,13	0,01	-0,18	-0,22	-0,17	-0,06	-0,08	-0,25	-0,47	-0,39	-0,40	-0,14	-0,39	0,21	0,01	0,03	0,03	0,13
I123H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,08
I123K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,05	0,08
I123L	-1,30	-0,29	-0,02	-0,29	-0,39	-0,32	0,12	-0,10	-0,29	0,19	-0,06	-0,03	-0,72	-0,42	-0,17	0,10	0,36	0,27	0,29
I123M	-1,32	-0,27	-0,01	-0,33	-0,39	-0,33	0,03	0,10	-0,52	-0,17	-0,27	-0,19	-0,88	-0,54	-0,08	0,11	0,32	0,26	0,34
I123N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,04	0,09
I123P	-1,39	-0,27	-0,01	-0,37	-0,41	-0,29	-0,05	-0,12	-0,47	-0,80	-0,78	-0,70	-1,02	-0,54	0,11	0,09	0,33	0,25	0,34
I123Q	-1,41	-0,26	0,01	-0,42	-0,39	-0,34	-0,35	-0,31	-0,66	-1,10	-1,06	-0,91	-0,79	-0,56	0,62	0,02	0,03	0,04	0,13
I123R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,08
I123S	-1,42	-0,30	-0,02	-0,41	-0,41	-0,32	-0,24	-0,29	-0,63	-1,13	-1,00	-0,89	-1,09	-0,44	0,90	0,01	0,03	0,04	0,12
I123T	-1,32	-0,26	-0,01	-0,29	-0,34	-0,29	0,01	0,01	-0,41	-0,25	-0,38	-0,37	-0,94	-0,50	0,01	0,10	0,33	0,28	0,31
I123V	-0,65	-0,27	-0,06	-0,04	-0,07	-0,09	0,11	0,07	-0,03	0,56	0,51	0,25	-0,21	-0,27	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,29
I123W	-0,36	0,25	-0,01	-0,14	-0,24	-0,12	-0,14	-0,32	-0,27	-0,48	-0,29	-0,35	-0,37	-0,17	0,00	0,05	0,18	0,16	0,30
I123Y	-0,91	-1,32	-0,15	-0,46	-0,41	-0,26	2,25	1,89	2,31	-1,19	-1,29	-1,18	-1,04	-0,51	-0,37	0,00	0,00	0,00	0,09
L124A	-1,53	-0,31	-0,01	-0,10	-0,17	-0,24	-0,02	-0,01	-0,05	0,42	0,07	0,23	0,09	-0,51	-0,09	0,11	0,31	0,26	0,40
L124C	-1,47	-0,32	0,00	-0,18	-0,28	-0,27	-0,06	0,03	-0,26	0,04	0,04	0,08	-0,40	-0,69	0,31	0,14	0,41	0,31	0,48
L124D	-1,58	-0,30	-0,01	-0,34	-0,37	-0,32	-0,05	0,01	-0,50	-0,36	-0,55	-0,49	-0,67	-0,61	-0,13	0,13	0,45	0,34	0,46
L124E	-0,04	-1,30	-0,16	-0,39	-0,43	-0,31	-0,05	-0,45	-0,13	0,25	0,15	-0,44	-0,72	-0,57	-0,42	0,00	0,00	0,00	0,39
L124F	-1,55	-0,31	-0,02	-0,10	-0,21	-0,25	-0,08	0,05	-0,25	0,00	-0,09	0,01	-0,71	-0,65	-0,16	0,09	0,25	0,20	0,36
L124G	-1,67	-0,30	-0,01	-0,33	-0,42	-0,35	-0,09	-0,10	-0,57	-0,30	-0,32	-0,25	-0,93	-0,60	0,32	0,11	0,36	0,24	0,43
L124H	-1,66	-0,32	-0,02	-0,28	-0,43	-0,35	-0,17	-0,05	-0,56	0,20	0,16	0,27	-0,70	-0,51	0,43	0,13	0,46	0,33	0,38
L124I	-1,23	-0,28	-0,01	-0,03	-0,11	-0,17	0,05	-0,06	-0,04	0,03	-0,12	0,32	-0,12	-0,54	0,28	0,09	0,28	0,22	0,34
L124K	-1,27	-0,30	-0,01	0,03	-0,08	-0,16	0,03	0,05	-0,03	0,67	0,43	0,70	-0,05	-0,52	0,14	0,15	0,45	0,32	0,44
L124M	-0,02	-0,27	-0,06	-0,01	0,00	-0,01	0,13	0,16	0,15	0,65	0,45	0,28	-0,04	-0,20	-0,09	0,00	0,00	0,00	0,27
L124N	-1,62	-0,30	-0,01	-0,20	-0,36	-0,33	0,08	-0,09	-0,37	0,15	0,08	0,22	-0,56	-0,56	0,02	0,11	0,35	0,26	0,40
L124P	-1,68	-0,32	-0,02	-0,43	-0,41	-0,35	-0,35	-0,28	-0,67	-1,09	-1,03	-0,89	-1,06	-0,75	0,07	0,05	0,20	0,14	0,29
L124Q	0,06	-0,78	-0,15	-0,14	-0,18	-0,12	-0,10	-0,48	-0,05	0,26	0,40	0,20	-0,30	-0,52	-0,36	0,00	0,00	0,00	0,40
L124R	-1,48	-0,30	-0,01	-0,12	-0,12	-0,18	-0,05	-0,07	-0,30	0,13	0,03	0,40	-0,19	-0,68	0,15	0,15	0,38	0,27	0,44
L124S	-1,56	-0,31	-0,01	-0,14	-0,29	-0,28	-0,02	-0,03	-0,12	0,26	0,07	0,20	-0,46	-0,59	0,03	0,15	0,45	0,37	0,44
L124T	-1,48	-0,31	-0,02	-0,08	-0,27	-0,27	-0,05	-0,03	-0,31	0,13	-0,01	0,14	-0,58	-0,62	-0,12	0,11	0,34	0,27	0,38
L124V	-0,04	-1,07	-0,16	-0,11	-0,21	-0,21	0,39	0,05	0,24	0,48	0,70	0,14	-0,35	-0,49	-0,34	0,00	0,00	0,00	0,25
L124W	-0,08	-1,31	-0,17	-0,35	-0,42	-0,31	0,02	-0,37	-0,07	0,07	0,20	-0,12	-0,68	-0,52	-0,35	0,00	0,00	0,00	0,34
L124Y	-0,13	-1,17	-0,16	-0,21	-0,29	-0,26	0,33	-0,13	0,16	-0,01	0,21	-0,42	-0,70	-0,52	-0,36	0,00	0,00	0,00	0,27
Y125A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
Y125C	-1,57	-0,24	-0,02	-0,41	-0,42	-0,33	-0,26	-0,36	-0,75	-1,17	-0,89	-0,42	-1,12	-0,86	0,20	0,05	0,29	0,19	0,34
Y125D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,06
Y125E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,05
Y125F	-1,17	-0,25	-0,02	-0,10	-0,13	-0,13	-0,01	-0,06	-0,14	-0,25	-0,20	0,02	-0,37	-0,78	0,09	0,09	0,28	0,24	0,36
Y125G	-1,57	-0,25	-0,02	-0,31	-0,36	-0,19	-0,58	-0,52	-0,24	-1,38	-1,11	-0,67	0,17	0,11	0,28	0,00	0,02	0,02	0,15
Y125H	-1,54	-0,24	-0,02	-0,29	-0,38	-0,31	-0,03	-0,10	-0,48	-0,20	-0,16	0,01	-0,81	-0,89	-0,18	0,18	0,54	0,38	0,59
Y125I	-0,12	-1,37	-0,18	-0,40	-0,45	-0,33	0,07	-1,06	-1,02	-0,03	-0,15	-0,55	-1,10	-0,53	-0,35	0,00	0,00	0,00	0,32
Y125K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,04	0,05
Y125L	-1,56	-0,24	-0,02	-0,42	-0,42	-0,33	-0,24	-0,35	-0,70	-1,07	-0,85	-0,42	-1,09	-0,85	0,24	0,04	0,20	0,14	0,29
Y125M	-0,21	-1,37	-0,17	-0,39	-0,44	-0,33	0,18	-0,46	-0,17	0,04	0,06	-0,49	-1,12	-0,56	-0,39	0,00	0,00	0,00	0,29
Y125N	-1,61	-0,26	-0,02	-0,44	-0,42	-0,30	-0,59	-0,53	-0,76	-1,33	-1,05	-0,60	-1,12	-0,89	1,00	0,01	0,06	0,04	0,17
Y125P	-1,58	-0,23	-0,02	-0,33	-0,26	-0,19	-0,62	-0,69	-0,80	-1,31	-0,98	-0,67	-0,14	-0,21	0,61	0,01	0,02	0,04	0,10
Y125Q	-0,73	-1,41	-0,16	-0,47	-0,44	-0,32	0,86	0,41	0,82	-1,14	-1,29	-1,23	-1,13	-0,67	-0,45	0,00	0,00	0,00	0,16
Y125R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,04	0,05
Y125S	-1,55	-0,24	-0,02	-0,42	-0,42	-0,33	-0,33	-0,42	-0,73	-1,30	-1,03	-0,57	-1,10	-0,80	0,07	0,05	0,26	0,16	0,38
Y125T	-1,49	-0,25	-0,02	-0,37	-0,42	-0,33	0,02	-0,04	-0,45	-0,39	-0,23	-0,06	-0,72	-0,83	-0,09	0,18	0,52	0,40	0,53
Y125V	-1,56	-0,25	-0,02	-0,41	-0,40	-0,31	-0,06	-0,28	-0,67	-0,48	-0,50	-0,16	-1,10	-0,81	0,33	0,07	0,24	0,20	0,32
Y125W	-0,69	-0,23	-0,02	-0,09	-0,13	-0,07	-0,05	-0,07	-0,01	-0,47	-0,02	-0,15	-0,04	-0,82	0,57	0,10	0,27	0,23	0,33
T126A	-1,24	-0,27	-0,02	-0,32	-0,38	-0,32	-0,18	-0,14	-0,53	-0,62	-0,49	-0,46	-0,41	-0,58	-0,19	0,10	0,28	0,19	0,34
T126C	-0,23	-0,01	-0,04	0,03	-0,01	-0,01	-0,04	0,00	-0,02	0,06	0,06	-0,06	-0,01	-0,14	-0,26	0,00	0,00	0,00	0,57
T126D	-0,73	-1,42	-0,17	-0,46	-0,45	-0,34	-0,57	-0,94	-0,61	-1,15	-1,31	-1,24	-1,23	-0,61	-0,43	0,00	0,00	0,00	0,69
T126E	-1,06	-0,25	0,00	-0,35	-0,39	-0,31	0,01	-0,07	-0,45	-0,74	-0,78	-0,70	0,07	-0,52	-0,20	0,12	0,41	0,24	0,38
T126F	-0,16	-0,89	-0,17	-0,28	-0,25	-0,19	0,50	0,14	0,44	-0,15	-0,15	-0,63	-0,75	-0,72	-0,53	0,00	0,00	0,00	0,21
T126G	-1,33	-0,26	-0,01	-0,37	-0,39	-0,32	-0,41	-0,47	-0,61	-0,93	-0,94	-0,84	-0,65	-0,48	-0,16	0,04	0,11	0,06	0,23
T126H	-1,33	-0,27	-0,01	-0,38	-0,40	-0,33	-0,20	-0,27	-0,58	-0,73	-0,80	-0,63	-0,83	-0,64	-0,23	0,08	0,26	0,20	0,40
T126I	-0,53	0,02	0,01	-0,14	-0,14	-0,12	-0,06	-0,21	-0,52	-0,53	-0,73	-0,38	-0,07	-0,14	-0,11	0,03	0,17	0,14	0,24
T126K	-1,15	-0,43	-0,10	-0,40	-0,44	-0,34	-0,12	-0,36	-0,61	-0,40	-0,35	-0,48	-0,91	-0,50	-0,35	0,00	0,00	0,00	0,30
T126L	-0,14	0,39	0,01	-0,10	-0,10	-0,07	-0,14	-0,04	-0,22	-0,53	-0,45	-0,42	-0,05	0,17	0,18	0,09	0,22	0,16	0,25
T126M	-0,97	-1,40	-0,13	-0,43	-0,43	-0,30	2,30	1,98	2,39	-1,20	-1,40	-1,22	-1,32	-1,05	-0,81	0,00	0,00	0,00	0,09
T126N	-1,33	-0,27	-0,01	-0,39	-0,40	-0,34	-0,22	-0,23	-0,61	-0,90	-0,90	-0,76	-0,86	-0,64	-0,25	0,09	0,27	0,20	0,38
T126P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,07
T126Q	-1,17	-0,23	-0,01	-0,23	-0,31	-0,29	-0,02	0,00	-0,45	-0,19	-0,27	-0,31	-0,38	-0,57	-0,20	0,15	0,38	0,27	0,43
T126R	-1,33	-0,27	-0,02	-0,39	-0,40	-0,33	-0,25	-0,40	-0,61	-0,93	-1,00	-0,81	-0,76	-0,62	-0,22	0,09	0,23	0,20	0,40
T126S	-0,99	-0,26	-0,02	-0,09	-0,14	-0,15	0,08	0,04	-0,20	0,10	0,10	0,05	-0,04	-0,60	-0,21	0,15	0,50	0,36	0,50
T126V	-0,73	-0,16	-0,02	-0,17	-0,18	-0,19	-0,20	-0,13	-0,29	-0,53	-0,43	-0,42	0,02	-0,30	-0,12	0,07	0,20	0,16	0,29
T126W	-1,33	-0,26	-0,02	-0,38	-0,40	-0,32	-0,23	-0,31	-0,59	-0,91	-1,01	-0,77	-0,93	-0,70	-0,30	0,06	0,18	0,14	0,27
T126Y	-1,00	-0,27	-0,01	-0,09	-0,13	-0,12	-0,10	-0,04	-0,22	-0,16	-0,38	-0,11	0,04	-0,51	-0,18	0,11	0,40	0,25	0,40
S127A	-1,50	-0,33	-0,03	-0,28	-0,41	-0,36	-0,12	-0,23	-0,58	-0,20	-0,15	-0,32	-0,80	-0,80	-0,35	0,21	0,44	0,36	0,44
S127C	-0,15	0,28	-0,01	-0,07	-0,06	-0,08	-0,11	-0,14	-0,16	-0,56	-0,44	-0,02	0,04	0,11	0,14	0,10	0,32	0,27	0,40
S127D	-1,58	-0,34	-0,03	-0,44	-0,46	-0,40	-0,11	-0,26	-0,69	-0,84	-0,89	-0,40	-0,93	-0,86	-0,37	0,11	0,33	0,31	0,40
S127E	-0,63	-1,37	-0,17	-0,47	-0,45	-0,33	0,92	0,50	0,86	-1,03	-1,34	-1,23	-1,21	-0,56	-0,38	0,00	0,00	0,00	0,16
S127F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,03	0,06
S127G	-1,56	-0,34	-0,02	-0,38	-0,46	-0,39	-0,11	-0,28	-0,69	-0,40	-0,73	-0,20	-0,89	-0,84	-0,41	0,11	0,35	0,13	0,36

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
S127H	-1,55	-0,34	-0,03	-0,43	-0,46	-0,40	-0,39	-0,47	-0,69	-0,67	-0,73	-0,31	-0,76	-0,76	-0,34	0,05	0,20	0,20	0,28
S127I	-1,45	-0,32	-0,03	-0,28	-0,39	-0,37	-0,22	-0,21	-0,51	-0,62	-0,56	-0,09	-0,29	-0,55	-0,20	0,06	0,18	0,14	0,19
S127K	-1,45	-0,26	-0,02	-0,29	-0,34	-0,34	-0,25	-0,24	-0,59	-0,90	-0,81	-0,27	-0,07	-0,88	-0,43	0,08	0,20	0,17	0,22
S127L	-1,63	-0,36	-0,03	-0,44	-0,47	-0,40	-0,43	-0,48	-0,70	-1,04	-0,83	-0,33	-0,78	-0,83	-0,42	0,03	0,10	0,08	0,18
S127M	-0,06	-1,27	-0,17	-0,30	-0,33	-0,25	0,79	0,37	0,54	0,13	-0,60	-0,66	-1,04	-0,55	-0,36	0,00	0,00	0,00	0,19
S127N	-0,25	-0,14	-0,02	-0,06	-0,14	-0,05	-0,19	-0,15	-0,27	-0,23	-0,29	0,11	-0,27	-0,17	-0,21	0,20	0,48	0,39	0,37
S127P	-1,65	-0,32	-0,03	-0,44	-0,44	-0,38	-0,56	-0,55	-0,72	-1,49	-1,30	-0,56	-0,48	-0,68	-0,27	0,02	0,05	0,04	0,18
S127Q	-0,25	-1,40	-0,17	-0,45	-0,44	-0,32	0,18	-0,20	0,09	0,16	-0,46	-0,81	-1,19	-0,74	-0,56	0,00	0,00	0,00	0,27
S127R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,03	0,05
S127T	-1,27	-0,32	-0,03	-0,13	-0,20	-0,25	-0,02	-0,09	-0,39	-0,29	-0,05	-0,05	0,00	-0,72	-0,30	0,12	0,38	0,28	0,32
S127V	-1,27	-0,33	-0,03	-0,21	-0,32	-0,35	-0,27	-0,28	-0,47	-0,49	-0,64	-0,19	-0,42	-0,80	-0,40	0,10	0,31	0,22	0,26
S127W	-0,92	-1,37	-0,15	-0,45	-0,41	-0,24	2,71	2,29	2,67	-1,24	-1,29	-1,27	-1,20	-0,55	-0,41	0,00	0,00	0,00	0,08
S127Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,04
I128A	-1,49	-0,28	-0,02	-0,39	-0,36	-0,33	-0,08	-0,27	-0,72	-0,34	-0,59	-0,60	-0,63	-0,64	-0,19	0,13	0,37	0,26	0,36
I128C	-0,08	-1,40	-0,18	-0,19	-0,33	-0,36	-0,16	-0,17	-0,59	0,05	0,19	0,02	-0,21	-0,61	-0,43	0,00	0,00	0,00	0,33
I128D	-0,93	-1,37	-0,14	-0,42	-0,36	-0,21	2,40	2,00	2,51	-1,18	-1,31	-1,22	-1,11	-0,62	-0,42	0,00	0,00	0,00	0,09
I128E	-1,54	-0,29	-0,02	-0,40	-0,34	-0,33	-0,33	-0,53	-0,78	-1,12	-0,95	-0,83	-0,76	-0,70	-0,29	0,03	0,06	0,06	0,18
I128F	-1,54	-0,17	-0,02	-0,35	-0,31	-0,32	-0,26	-0,59	-0,73	-1,52	-1,05	-0,88	-0,32	-0,50	-0,10	0,02	0,03	0,03	0,11
I128G	-1,46	-0,25	-0,01	-0,38	-0,33	-0,31	-0,38	-0,41	-0,75	-1,18	-0,91	-0,87	-0,59	-0,42	-0,14	0,05	0,16	0,09	0,24
I128H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,04
I128K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,03	0,03	0,05
I128L	-1,31	-0,26	-0,02	-0,15	-0,24	-0,26	-0,11	-0,09	-0,52	-0,03	0,12	0,02	-0,09	-0,60	-0,20	0,14	0,37	0,25	0,36
I128M	-1,44	-0,24	-0,02	-0,36	-0,34	-0,32	-0,17	-0,32	-0,69	-0,37	-0,59	-0,62	-0,59	-0,59	-0,19	0,11	0,33	0,25	0,37
I128N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,07
I128P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,04
I128Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,04	0,06
I128R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,04
I128S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,10
I128T	-1,49	-0,23	-0,02	-0,40	-0,36	-0,34	-0,14	-0,22	-0,67	-0,77	-0,84	-0,72	-0,67	-0,72	-0,29	0,09	0,25	0,20	0,23
I128V	-0,20	0,05	-0,01	0,01	-0,02	-0,05	0,04	0,05	-0,12	-0,07	0,00	-0,14	0,06	0,06	0,09	0,16	0,47	0,37	0,43
I128W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,00	0,01
I128Y	-1,60	-0,27	-0,02	-0,38	-0,36	-0,32	-0,55	-0,50	-0,78	-1,52	-1,05	-0,88	-0,33	-0,38	-0,03	0,01	0,04	0,02	0,11
Y129A	-1,60	-0,35	-0,01	-0,34	-0,44	-0,35	-0,04	-0,13	-0,62	0,03	0,15	0,06	-0,87	-0,87	-0,30	0,17	0,49	0,36	0,38
Y129C	0,11	-1,61	-0,18	-0,32	-0,38	-0,39	0,11	-0,15	-0,54	0,47	0,25	0,07	-0,83	-0,68	-0,54	0,00	0,00	0,00	0,16
Y129D	-1,62	-0,33	-0,01	-0,44	-0,45	-0,35	-0,41	-0,63	-0,74	-0,98	-1,06	-0,79	-0,83	-0,80	-0,31	0,03	0,06	0,05	0,21
Y129E	-1,67	-0,36	-0,01	-0,45	-0,45	-0,35	-0,37	-0,48	-0,75	-0,85	-0,83	-0,68	-0,95	-0,90	-0,31	0,05	0,14	0,12	0,24
Y129F	-0,08	-0,06	0,00	-0,07	-0,06	-0,01	-0,10	-0,12	-0,06	-0,17	-0,10	-0,02	-0,02	-0,38	-0,19	0,11	0,30	0,23	0,29
Y129G	-1,67	-0,35	-0,01	-0,44	-0,44	-0,35	-0,38	-0,45	-0,76	-0,60	-0,92	-0,70	-0,93	-0,86	-0,28	0,04	0,10	0,04	0,26
Y129H	0,21	-1,59	-0,19	-0,34	-0,40	-0,38	0,05	-0,19	-0,64	0,53	0,42	0,45	-0,96	-0,58	-0,40	0,00	0,00	0,00	0,18
Y129I	-1,62	-0,32	-0,01	-0,36	-0,43	-0,33	-0,11	-0,20	-0,72	-0,02	-0,12	-0,17	-0,91	-0,87	-0,30	0,09	0,30	0,22	0,31
Y129K	-1,64	-0,36	-0,01	-0,42	-0,45	-0,34	-0,46	-0,58	-0,77	-0,49	-0,85	-0,66	-0,82	-0,84	-0,32	0,02	0,05	0,05	0,23
Y129L	-1,61	-0,35	-0,01	-0,34	-0,43	-0,35	-0,12	-0,21	-0,65	-0,11	-0,05	-0,08	-0,95	-0,87	-0,31	0,17	0,47	0,36	0,38
Y129M	-1,39	-0,35	-0,01	-0,11	-0,23	-0,18	-0,08	-0,07	-0,27	-0,10	0,06	0,13	-0,16	-0,93	-0,36	0,12	0,40	0,26	0,34
Y129N	-0,13	-1,66	-0,19	-0,48	-0,42	-0,39	-0,09	-0,37	-0,70	0,04	-0,60	-1,04	-1,05	-0,76	-0,59	0,00	0,00	0,00	0,15
Y129P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,07
Y129Q	-1,66	-0,37	-0,01	-0,45	-0,45	-0,35	-0,30	-0,36	-0,79	-0,06	-0,33	-0,46	-1,08	-1,07	-0,46	0,07	0,33	0,22	0,37
Y129R	-1,61	-0,35	-0,01	-0,42	-0,45	-0,35	-0,34	-0,44	-0,73	0,00	-0,75	-0,55	-0,92	-0,88	-0,29	0,06	0,16	0,15	0,42
Y129S	-1,59	-0,35	-0,01	-0,39	-0,43	-0,33	-0,14	-0,19	-0,63	0,06	0,07	0,06	-0,95	-0,84	-0,28	0,19	0,52	0,38	0,43
Y129T	-1,36	-0,34	-0,01	-0,06	-0,38	-0,34	0,06	-0,02	-0,25	-0,26	0,03	0,16	-0,85	-0,86	-0,27	0,34	0,30	0,46	0,85
Y129V	-1,59	-0,36	-0,01	-0,32	-0,45	-0,35	-0,09	-0,07	-0,58	0,01	0,09	0,06	-0,91	-0,96	-0,36	0,28	0,48	0,48	0,62
Y129W	-1,64	-0,36	-0,01	-0,36	-0,41	-0,33	-0,56	-0,53	-0,79	-1,09	-0,75	-0,57	-0,87	-0,85	-0,29	0,04	0,13	0,09	0,14
S130A	-1,40	-0,14	-0,02	-0,24	-0,40	-0,36	-0,33	-0,45	-0,57	-0,02	0,07	-0,15	-0,77	-1,04	-0,49	0,10	0,28	0,20	0,25
S130C	-1,22	-0,17	-0,02	0,09	0,07	0,03	-0,30	-0,45	-0,64	-0,14	-0,14	-0,20	0,05	-0,87	-0,32	0,07	0,43	0,32	0,25
S130D	-0,01	-1,58	-0,19	-0,21	-0,29	-0,38	-0,15	-0,05	-0,63	-0,23	-0,18	-0,01	-0,77	-0,55	-0,43	0,00	0,00	0,00	0,13
S130E	-1,49	-0,20	-0,02	-0,37	-0,41	-0,39	-0,59	-0,73	-0,71	-0,73	-0,84	-0,87	-1,10	-0,75	-0,20	0,01	0,15	0,12	0,14
S130F	-1,41	-0,18	-0,03	-0,42	-0,43	-0,39	-0,54	-0,58	-0,55	-0,84	-0,88	-0,86	-0,67	-0,42	-0,10	0,02	0,06	0,03	0,13
S130G	-0,94	-0,13	-0,02	-0,08	-0,31	-0,32	-0,16	-0,35	-0,42	0,21	0,26	0,15	-0,40	-0,81	-0,28	0,19	0,54	0,00	0,53
S130H	-1,48	-0,19	0,01	-0,42	-0,45	-0,39	-0,41	-0,41	-0,45	-0,88	-0,91	-0,84	-1,20	-1,09	-0,59	0,04	0,29	0,13	0,29
S130I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
S130K	-1,27	-0,17	-0,01	-0,29	-0,28	-0,25	-0,21	-0,17	-0,22	-0,23	-0,23	-0,45	-0,16	-0,67	-0,18	0,08	0,28	0,23	0,32
S130L	-1,49	-0,17	-0,03	-0,41	-0,46	-0,40	-0,47	-0,52	-0,55	-0,89	-0,94	-0,89	-1,25	-0,78	-0,28	0,01	0,02	0,01	0,11
S130M	-1,49	-0,21	-0,01	-0,41	-0,42	-0,37	-0,53	-0,57	-0,56	-0,89	-0,89	-0,90	-1,11	-0,85	-0,26	0,01	0,04	0,03	0,14
S130N	-1,34	-0,19	-0,01	-0,40	-0,43	-0,36	-0,21	-0,44	-0,58	-0,60	-0,66	-0,76	-1,03	-0,78	-0,32	0,11	0,57	0,40	0,39
S130P	-1,49	-0,16	-0,03	-0,41	-0,44	-0,40	-0,44	-0,54	-0,59	-0,83	-0,86	-0,82	-0,81	-0,79	-0,50	0,01	0,09	0,04	0,12
S130Q	-1,37	-0,17	-0,03	-0,38	-0,43	-0,37	-0,37	-0,58	-0,60	-0,87	-0,82	-0,86	-1,10	-0,85	-0,36	0,02	0,06	0,03	0,13
S130R	-1,49	-0,20	0,01	-0,43	-0,45	-0,38	-0,14	-0,17	-0,12	-0,91	-0,95	-0,80	-0,95	-0,95	-0,51	0,01	0,05	0,02	0,12
S130T	-0,93	-0,19	-0,02	-0,07	-0,17	-0,17	0,00	0,01	-0,13	0,04	0,04	-0,03	0,54	-1,00	-0,43	0,10	0,31	0,26	0,24
S130V	-1,49	-0,15	-0,03	-0,40	-0,45	-0,39	-0,49	-0,59	-0,57	-0,36	-0,32	-0,62	-0,94	-0,70	-0,19	0,04	0,18	0,17	0,16
S130W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
S130Y	-1,45	-0,17	-0,02	-0,41	-0,45	-0,38	-0,66	-0,71	-0,67	-0,87	-0,83	-0,86	-0,98	-0,76	-0,30	0,02	0,07	0,05	0,20
S131A	-0,61	-0,44	-0,11	-0,01	-0,10	-0,09	-0,08	-0,12	-0,21	-0,04	0,09	0,09	-0,56	-0,38	-0,36	0,00	0,00	0,00	0,92
S131C	-1,01	0,13	0,07	-0,05	-0,29	-0,21	0,12	0,01	-0,18	-0,07	-0,14	0,15	-0,28	-0,49	-0,06	0,19	0,49	0,36	0,40
S131D	-0,66	0,29	0,04	0,04	-0,01	-0,05	0,10	-0,01	-0,03	-0,58	-0,27	0,10	-1,45	-0,74	0,09	0,57	0,24	0,40	1,04
S131E	-1,07	-0,28	-0,01	-0,11	-0,19	-0,25	-0,13	-0,03	-0,27	-0,52	-0,36	-0,02	-0,28	-0,87	-0,35	0,19	0,52	0,37	0,42
S131F	-1,35	-0,31	-0,01	-0,08	-0,24	-0,23	-0,26	-0,28	-0,64	0,67	0,29	0,21	-0,84	-0,62	-0,17	0,04	0,13	0,11	0,13
S131G	-1,63	-0,30	-0,01	-0,02	-0,13	-0,20	0,18	-0,01	-0,30	0,21	0,35	0,06	-0,51	-1,04	-0,45	0,28	0,49	0,00	0,52
S131H	-1,06	-0,25	0,00	-0,04	-0,19	-0,19	-0,02	-0,14	-0,45	0,23	0,47	0,51	-0,73	-0,87	-0,32	0,21	0,50	0,37	0,60
S131I	-1,72	-0,27	-0,01	-0,03	-0,26	-0,26	-0,19	-0,30	-0,64	-0,58	-0,42	-0,60	-0,74	-1,18	-0,54	0,03	0,08	0,07	0,12
S131K	-1,04	-0,21	0,02	0,15	0,06	0,12	0,18	0,04	-0,15	0,00	0,00	0,00	-1,44	-0,80	-0,08	0,74	0,12	0,28	1,36
S131L	-1,52	-0,29	-0,02	-0,12	-0,16	-0,17	-0,05	-0,23	-0,58	-0,12	-0,02	-0,15	-0,75	-0,89	-0,35	0,07	0,19	0,17	0,24
S131M	-1,53	-0,29	-0,02	-0,19	-0,23	-0,19	-0,11	-0,13	-0,58	-0,23	0,03	-0,05	-0,64	-0,99	-0,43	0,09	0,23	0,20	0,28
S131N	-1,04	-0,25	-0,01	0,00	-0,05	-0,08	0,01	-0,18	-0,16	-0,42	-0,37	0,18	-1,32	-0,81	-0,33	0,45	0,25	0,51	0,74
S131P	-1,53	-0,26	0,15	0,18	-0,07	-0,19	-0,05	-0,20	-0,34	0,00	0,13	0,56	-0,74	-1,03	-0,43	0,33	0,55	0,58	0,68
S131Q	-0,02	-1,31	-0,20	-0,05	-0,11	-0,22	-0,02	-0,05	-0,25	0,19	0,07	-0,04	-0,11	-0,66	-0,47	0,00	0,00	0,00	0,39
S131R	-1,40	-0,12	0,01	0,05	0,02	-0,07	0,11	0,08	-0,24	0,00	0,00	0,00	-1,26	-0,66	-0,20	0,57	0,43	0,52	1,08
S131T	-0,25	-0,07	-0,01	0,00	0,00	0,05	0,01	-0,09	-0,08	-0,15	0,01	0,19	-0,40	-0,14	-0,01	0,20	0,52	0,45	0,49
S131V	-1,53	-0,29	-0,01	-0,09	-0,15	-0,16	-0,27	-0,39	-0,70	-0,20	-0,27	-0,02	-0,06	-1,02	-0,42	0,10	0,28	0,25	0,30
S131W	-1,58	-0,31	-0,01	-0,26	-0,37	-0,33	-0,25	-0,36	-0,63	-0,02	-0,06	-0,09	-0,94	-0,89	-0,34	0,07	0,23	0,18	0,21
S131Y	-1,47	-0,27	-0,01	-0,17	-0,27	-0,27	-0,20	-0,33	-0,61	0,32	0,36	0,32	-0,65	-0,80	-0,26	0,09	0,22	0,19	0,24
A132C	0,02	0,12	0,41	0,18	0,16	0,06	0,12	0,03	-0,06	-0,05	0,28	0,29	-0,17	-0,26	0,11	0,18	0,52	0,44	0,39
A132D	0,03	0,16	1,12	0,20	0,18	0,16	0,29	0,28	0,23	-0,44	-0,25	-0,14	-1,44	-0,92	0,16	0,41	0,49	0,64	0,71
A132E	0,05	-0,02	0,24	0,05	0,04	-0,02	0,11	0,01	-0,02	-0,66	-0,47	-0,25	-0,85	-0,43	-0,26	0,32	0,66	0,64	0,62
A132F	-1,07	0,12	-0,06	-0,15	-0,17	-0,20	0,18	-0,14	-0,12	0,04	-0,34	-0,10	-0,42	-1,01	-0,41	0,08	0,20	0,21	0,21
A132G	0,24	0,04	0,07	0,05	0,06	0,04	0,05	-0,05	-0,07	-0,09	0,08	0,02	-0,33	0,05	0,03	0,19	0,55	0,40	0,42
A132H	-0,50	-0,18	-0,04	-0,08	-0,09	-0,11	-0,17	-0,30	-0,19	0,29	0,32	0,31	-0,82	-0,41	-0,17	0,28	0,54	0,51	0,38
A132I	0,03	-1,55	-0,19	-0,14	-0,15	-0,27	0,11	-0,06	-0,50	0,22	0,42	-0,14	-0,70	-0,67	-0,55	0,00	0,00	0,00	0,18
A132K	0,40	-0,39	-0,20	-0,03	-0,01	-0,04	-0,01	-0,01	-0,18	0,55	-0,01	0,17	0,01	-0,53	-0,47	0,00	0,00	0,00	0,38
A132L	-1,19	-0,07	-0,05	-0,08	-0,10	-0,15	-0,25	-0,35	-0,35	-0,37	-0,21	-0,21	-0,28	-1,24	-0,57	0,14	0,40	0,32	0,30
A132M	0,08	-0,95	-0,18	-0,10	-0,10	-0,13	0,13	0,12	-0,28	0,26	0,38	0,01	-0,11	-0,63	-0,52	0,00	0,00	0,00	0,18
A132N	0,00	0,19	0,31	0,14	0,13	0,13	0,19	0,24	0,19	-0,63	0,00	-0,27	-1,56	-0,98	-0,11	0,47	0,48	0,59	1,11

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
A132P	-1,21	0,28	-0,06	-0,25	-0,26	-0,24	-0,07	-0,25	-0,50	-0,05	-0,18	-0,16	-1,34	-1,22	-0,53	0,20	0,66	0,61	0,46
A132Q	0,08	0,20	-0,18	-0,04	-0,01	-0,03	0,02	0,17	-0,08	0,30	0,48	0,34	0,12	-0,47	-0,38	0,00	0,00	0,00	0,29
A132R	-0,21	0,19	0,01	0,02	-0,01	-0,01	-0,05	-0,07	-0,10	0,97	0,00	0,80	-0,37	-1,01	-0,43	0,18	0,50	0,42	0,41
A132S	0,24	-0,03	0,19	0,05	0,06	0,04	0,07	0,02	0,03	0,20	0,19	0,36	-0,77	-0,19	0,22	0,24	0,58	0,55	0,47
A132T	0,23	0,22	-0,02	0,16	0,15	0,12	0,07	0,09	0,16	-0,01	0,07	0,20	-0,57	-0,53	-0,29	0,31	0,60	0,62	0,52
A132V	-1,24	0,01	-0,06	0,00	-0,04	-0,12	-0,09	-0,20	-0,37	0,21	0,08	0,06	-0,14	-1,08	-0,48	0,26	0,61	0,59	0,41
A132W	-1,03	-0,02	-0,06	-0,17	-0,20	-0,24	-0,04	-0,24	-0,15	0,11	0,42	0,42	-0,10	-0,98	-0,37	0,19	0,46	0,37	0,34
A132Y	-1,10	0,00	-0,05	-0,07	-0,13	-0,19	-0,15	-0,19	-0,21	0,25	0,36	0,45	-0,03	-1,18	-0,48	0,19	0,55	0,46	0,34
D133A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,03
D133C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,03
D133E	-1,37	-0,18	-0,02	-0,41	-0,44	-0,36	-0,29	-0,36	-0,50	-0,43	-1,24	-0,45	-1,00	-1,03	-0,27	0,03	0,08	0,07	0,25
D133F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,03	0,03
D133G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,04
D133H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,06	0,03
D133I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,03
D133K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,04
D133L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,03
D133M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,06	0,05
D133N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,03
D133P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,03
D133Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,04
D133R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,04	0,03
D133S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,04	0,04
D133T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,04	0,03
D133V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,03
D133W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,02	0,03
D133Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,03	0,03
M134A	-0,60	-0,02	0,08	0,07	0,03	0,08	0,07	0,03	0,08	-0,40	-0,86	-0,06	-1,59	-0,99	-0,17	0,55	0,16	0,39	1,05
M134C	-0,22	0,76	0,38	0,43	0,58	0,57	0,31	0,26	0,06	0,53	0,27	0,75	-0,45	-0,34	0,04	0,17	0,35	0,29	0,39
M134D	-0,76	-0,16	-0,01	0,51	0,41	0,41	0,39	0,42	0,15	-0,40	-0,40	0,03	-1,50	-1,12	-0,54	0,53	0,26	0,47	0,61
M134E	-0,95	-0,14	-0,01	0,17	0,19	0,17	0,24	0,21	0,05	-0,51	-0,79	-0,19	-1,58	-0,80	-0,41	0,52	0,14	0,41	0,91
M134F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
M134G	-0,11	0,05	0,00	0,11	0,14	0,23	0,00	0,04	0,16	0,37	0,14	0,49	-1,31	-0,34	-0,17	0,30	0,55	0,55	0,49
M134H	1,02	0,28	0,01	0,07	-0,02	0,05	0,17	0,11	0,47	0,43	0,00	-0,05	0,04	-0,20	-0,12	0,11	0,20	0,18	0,30
M134I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
M134K	0,00	0,60	0,03	0,10	0,14	0,19	0,06	0,15	0,18	-0,53	0,00	-0,13	-1,55	-1,02	-0,34	0,47	0,30	0,44	1,13
M134L	0,01	-0,09	0,00	0,04	0,07	-0,04	0,13	-0,13	0,04	-0,04	0,23	-0,35	-0,06	-0,02	0,08	0,11	0,29	0,27	0,34
M134N	-0,07	0,08	-0,01	0,11	0,09	0,13	0,15	0,21	0,27	-0,16	-0,36	-0,06	-1,47	-0,73	-0,01	0,35	0,45	0,51	0,69
M134P	-0,55	0,07	0,00	0,07	-0,03	-0,02	0,13	0,05	0,13	-0,39	0,00	0,00	-1,57	-0,83	-0,41	0,44	0,22	0,43	0,93
M134Q	-0,36	0,06	0,00	0,07	0,07	0,08	0,10	0,16	0,14	-0,24	-0,52	-0,12	-1,52	-0,78	0,12	0,38	0,32	0,47	0,66
M134R	0,41	0,73	0,01	0,10	0,11	0,21	0,24	0,31	0,52	0,49	0,03	-0,03	-0,99	-0,48	0,38	0,19	0,41	0,36	0,48
M134S	-0,54	-0,11	0,03	0,08	0,03	0,11	0,12	0,09	0,05	-0,57	-0,77	-0,22	-1,55	-0,69	-0,24	0,36	0,47	0,55	0,79
M134T	-0,57	-0,19	-0,01	0,00	0,11	0,10	0,14	0,45	0,11	-0,42	-0,58	-0,12	-0,79	-0,09	0,26	0,20	0,50	0,45	0,36
M134V	-0,44	-0,13	-0,02	-0,07	-0,04	-0,03	-0,09	-0,11	-0,17	-0,46	-0,51	-0,08	-0,51	-0,45	-0,24	0,13	0,36	0,27	0,38
M134W	-0,08	-0,06	0,03	0,13	0,29	0,55	0,24	0,17	-0,14	2,44	2,25	2,78	-0,95	-1,15	-0,28	0,03	0,05	0,05	0,17
M134Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,07
I135A	-0,56	-0,19	-0,01	-0,10	-0,08	-0,02	0,08	0,01	-0,06	-0,33	-0,63	-0,01	-0,25	-0,76	-0,31	0,17	0,49	0,36	0,50
I135C	-0,50	0,12	0,09	0,86	1,01	0,79	0,04	0,09	0,08	-0,15	-0,07	0,15	-0,46	-0,43	-0,03	0,12	0,12	0,10	0,20
I135D	-1,05	-0,31	-0,02	0,40	0,26	0,19	0,42	0,19	0,17	-0,32	-0,41	0,11	-1,28	-0,97	-0,37	0,12	0,19	0,13	0,22
I135E	-0,77	-0,31	-0,01	0,29	0,27	0,24	0,20	0,22	0,13	-0,35	-0,66	0,00	-0,72	-0,90	-0,34	0,12	0,23	0,15	0,25
I135F	-0,51	-0,19	-0,01	-0,03	0,04	-0,05	-0,05	-0,24	-0,29	-0,12	0,07	0,44	-0,27	-0,59	-0,27	0,03	0,10	0,08	0,19
I135G	-1,10	-0,25	-0,01	0,03	-0,18	-0,21	-0,12	-0,12	-0,35	-0,46	-0,58	-0,17	-0,82	-0,92	-0,35	0,12	0,33	0,20	0,34
I135H	-0,78	-0,20	-0,01	0,23	0,16	0,29	-0,30	-0,41	-0,49	-0,44	-0,45	0,11	0,01	-0,57	-0,22	0,07	0,14	0,12	0,28
I135K	-1,22	-0,31	-0,01	0,03	0,15	0,07	-0,11	-0,48	-0,41	-0,71	-0,52	-0,24	-1,04	-0,99	-0,40	0,02	0,04	0,04	0,17
I135L	0,18	-0,11	0,00	0,08	0,01	0,11	0,16	0,10	0,17	0,36	0,15	0,31	-0,66	0,03	-0,06	0,17	0,56	0,47	0,50
I135M	0,00	0,19	0,08	0,13	0,10	0,11	0,24	0,13	0,07	0,31	-0,26	0,30	-0,21	-0,08	-0,05	0,28	0,74	0,61	0,64
I135N	-0,96	-0,26	0,00	-0,20	-0,23	-0,18	0,00	-0,03	-0,40	-0,50	-0,41	-0,27	-0,41	-0,85	-0,34	0,06	0,18	0,17	0,27
I135P	-0,65	-0,21	-0,01	-0,11	-0,43	-0,34	0,23	0,19	-0,01	1,02	0,90	0,80	-0,90	-0,80	-0,30	0,27	0,66	0,48	0,45
I135Q	-0,14	-1,22	-0,17	-0,11	-0,09	-0,08	0,23	0,03	-0,18	-0,73	-0,90	-0,71	-0,85	-0,93	-0,71	0,00	0,00	0,00	0,17
I135R	-0,73	-0,24	0,00	0,84	0,96	0,75	-0,22	-0,32	-0,22	-0,03	-0,07	0,32	-0,94	-0,85	-0,32	0,03	0,02	0,01	0,14
I135S	-0,89	-0,17	-0,01	-0,09	-0,15	-0,01	0,09	0,06	-0,24	-0,75	-0,48	-0,31	-0,07	-0,84	-0,31	0,12	0,27	0,22	0,34
I135T	-0,70	-0,26	-0,01	0,01	-0,04	0,04	0,19	0,21	-0,02	-0,44	-0,43	-0,26	-0,31	-0,56	-0,24	0,17	0,59	0,45	0,38
I135V	0,05	0,01	0,00	-0,09	-0,09	-0,03	0,04	0,11	-0,02	-0,33	-0,31	-0,17	-0,30	0,20	0,20	0,13	0,50	0,38	0,44
I135W	-0,23	-0,13	0,01	0,43	0,22	0,21	0,11	0,00	0,10	1,28	1,01	0,88	0,01	-0,26	-0,06	0,09	0,15	0,13	0,29
I135Y	-0,69	-0,21	0,00	0,19	0,34	0,16	-0,04	-0,24	-0,23	-0,05	0,10	0,63	-0,56	-0,76	-0,31	0,05	0,08	0,05	0,17
V136A	-1,18	-0,20	0,00	-0,32	-0,42	-0,34	-0,22	-0,18	-0,49	0,16	0,04	-0,07	-0,99	-0,80	-0,29	0,07	0,28	0,21	0,30
V136C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
V136D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
V136E	-1,28	-0,20	0,00	-0,39	-0,43	-0,34	-0,18	-0,45	-0,45	-0,34	-0,42	-0,31	-1,15	-0,71	-0,25	0,01	0,00	0,01	0,11
V136F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,05
V136G	-1,19	-0,17	0,02	-0,34	-0,41	-0,32	-0,22	-0,22	-0,10	0,06	-0,08	-0,20	-0,74	-0,52	-0,21	0,02	0,06	0,04	0,14
V136H	-0,08	-0,35	-0,10	-0,20	-0,22	-0,18	0,18	0,27	0,43	-0,08	-0,06	-0,12	-0,22	-0,21	-0,12	0,00	0,00	0,00	0,12
V136I	-0,71	-0,17	-0,02	-0,14	-0,21	-0,15	0,01	-0,08	0,07	-0,27	-0,46	-0,03	-0,46	-0,53	-0,24	0,04	0,08	0,07	0,13
V136K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,03	0,08
V136L	-1,19	-0,21	-0,01	-0,33	-0,42	-0,34	-0,16	-0,14	-0,13	0,38	0,50	0,19	-0,91	-0,76	-0,28	0,05	0,14	0,12	0,21
V136M	-0,87	-0,14	-0,01	-0,26	-0,29	-0,23	-0,21	0,05	0,09	0,09	-0,21	-0,14	-0,80	-0,77	-0,24	0,03	0,06	0,05	0,10
V136N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,04	0,04	0,09
V136P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
V136Q	-1,27	-0,23	-0,03	-0,30	-0,42	-0,31	-0,09	-0,10	-0,19	-0,30	-0,49	-0,27	-0,85	-0,61	-0,25	0,04	0,11	0,10	0,18
V136R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,07
V136S	-1,19	-0,23	-0,01	-0,33	-0,42	-0,32	-0,19	-0,27	-0,39	-0,33	-0,04	-0,19	-0,90	-0,68	-0,24	0,03	0,09	0,08	0,16
V136T	-0,94	-0,16	-0,03	-0,24	-0,27	-0,26	-0,37	-0,30	-0,26	-0,35	-0,33	-0,30	-0,68	-0,64	-0,18	0,01	0,04	0,03	0,11
V136W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,03
V136Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,05
M137A	-0,16	0,32	0,02	0,02	0,04	-0,03	0,08	0,03	0,04	-0,43	-0,20	-0,13	-0,19	0,16	0,49	0,11	0,37	0,28	0,35
M137C	0,02	-0,47	0,24	0,01	0,17	0,23	0,11	0,17	-0,15	-0,66	-0,68	-0,59	-0,41	-0,24	-0,13	0,00	0,00	0,00	0,35
M137D	-0,40	-0,18	-0,03	-0,01	0,02	0,01	0,02	0,05	0,11	-0,45	-0,46	-0,37	-0,07	-0,07	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,56
M137E	-0,58	-0,11	-0,01	0,19	0,31	0,18	0,18	0,25	0,35	-0,37	-0,36	-0,10	-0,36	-0,29	-0,26	0,18	0,44	0,34	0,41
M137F	0,95	-0,14	-0,05	0,05	0,07	0,06	0,39	0,38	0,40	1,78	1,67	1,50	0,79	0,03	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,18
M137G	-0,23	0,18	0,06	0,10	0,11	0,11	0,11	0,17	0,20	-0,21	-0,16	0,06	-1,39	-0,58	0,16	0,32	0,52	0,46	0,78
M137H	0,02	0,67	0,04	-0,09	-0,05	-0,03	-0,12	-0,12	-0,08	0,25	0,05	-0,03	0,39	0,29	0,51	0,00	0,00	0,00	0,72
M137I	-0,16	0,01	-0,01	-0,06	-0,07	-0,15	-0,03	0,09	-0,03	-0,18	0,04	0,25	-1,10	-0,56	-0,26	0,19	0,58	0,49	0,65
M137K	0,14	0,10	0,00	0,17	0,17	0,15	0,11	0,20	0,27	-0,06	-0,13	-0,06	-1,15	-0,25	0,36	0,30	0,58	0,50	0,63
M137L	0,06	0,02	-0,01	0,06	0,05	0,01	0,04	0,04	0,05	0,31	0,22	0,23	-0,93	-0,37	-0,18	0,17	0,48	0,42	0,51
M137N	-0,17	-0,51	-0,02	-0,09	-0,06	-0,03	-0,12	0,07	-0,03	-0,51	-0,63	-0,75	-0,06	-0,03	0,10	0,00	0,00	0,00	0,57
M137P	0,51	1,49	1,33	-0,10	-0,04	-0,05	-0,09	-0,10	-0,02	0,26	0,12	-0,02	0,35	0,77	1,07	0,00	0,00	0,00	0,34
M137Q	-0,50	0,03	0,03	0,11	0,00	0,06	0,03	0,11	0,08	-0,43	-0,33	-0,17	-1,37	-0,63	0,14	0,39	0,50	0,51	0,79
M137R	-0,28	0,01	0,01	0,08	0,11	0,06	0,09	0,18	0,18	-0,09	-0,36	-0,14	-0,67	-0,15	0,17	0,19	0,41	0,35	0,46
M137S	-0,06	0,25	0,02	0,04	0,05	0,03	0,03	0,06	0,16	-0,19	-0,42	-0,15	-0,63	0,09	0,50	0,15	0,53	0,44	0,52
M137T	-0,21	-0,22	0,00	0,05	0,05	0,06	0,15	0,04	0,03	0,20	-0,03	-0,07	-1,02	-0,17	-0,09	0,17	0,55	0,47	0,58

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
M137V	-0,10	-0,12	0,00	-0,01	0,00	-0,06	0,01	0,10	-0,01	-0,12	0,07	-0,04	-0,51	-0,29	-0,20	0,11	0,42	0,32	0,40
M137W	0,04	0,50	0,05	0,13	0,18	0,08	0,06	0,08	0,04	1,31	1,41	1,57	0,08	-0,10	0,06	0,07	0,21	0,18	0,25
M137Y	0,06	-0,21	-0,05	-0,08	-0,05	-0,06	-0,08	-0,03	-0,01	0,51	0,17	0,04	0,28	-0,10	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,28
N138A	-1,07	-0,17	0,01	-0,07	-0,07	-0,09	-0,07	-0,06	-0,30	0,14	0,29	0,08	-0,43	-0,82	-0,37	0,15	0,40	0,32	0,45
N138C	-0,77	-0,29	-0,08	-0,13	-0,18	-0,23	-0,02	-0,13	0,01	-0,08	-0,17	-0,17	-0,13	-0,48	-0,21	0,00	0,00	0,00	0,16
N138D	-1,26	-0,17	0,00	-0,15	-0,28	-0,33	-0,04	-0,02	-0,10	-0,23	-0,13	0,19	-0,33	-0,85	-0,37	0,17	0,43	0,34	0,43
N138E	-0,90	-0,17	-0,01	-0,09	-0,17	-0,22	0,06	-0,02	-0,11	-0,08	0,03	-0,03	-0,18	-0,87	-0,39	0,10	0,29	0,23	0,37
N138F	-1,22	-0,17	-0,01	-0,31	-0,36	-0,30	-0,15	-0,64	-0,57	-0,45	-0,37	-0,05	-0,79	-0,65	-0,29	0,02	0,08	0,08	0,15
N138G	-0,87	-0,15	-0,01	-0,05	-0,03	-0,13	-0,08	-0,09	-0,16	0,06	0,33	0,11	-0,25	-0,78	-0,35	0,11	0,30	0,23	0,40
N138H	-1,07	-0,17	-0,01	-0,13	-0,19	-0,23	-0,07	-0,20	-0,40	-0,25	0,01	-0,08	-0,52	-0,80	-0,36	0,08	0,14	0,16	0,27
N138I	-1,26	-0,17	-0,01	-0,23	-0,35	-0,32	-0,20	-0,37	-0,47	-0,55	-0,38	-0,27	-0,93	-0,83	-0,34	0,03	0,11	0,09	0,20
N138K	-0,61	-0,06	0,00	0,29	0,09	-0,20	0,27	-0,04	-0,10	0,00	0,00	0,00	-1,21	-0,75	-0,33	0,63	0,10	0,20	1,38
N138L	-1,28	-0,17	-0,01	-0,35	-0,36	-0,32	-0,30	-0,44	-0,57	-0,32	-0,16	-0,17	-0,97	-0,82	-0,36	0,05	0,17	0,13	0,26
N138M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,06	0,06	0,06
N138P	-0,38	0,04	0,01	0,29	0,18	0,26	0,08	-0,01	0,13	-0,01	0,09	0,16	-1,31	-0,58	-0,06	0,49	0,25	0,37	1,13
N138Q	-0,83	-0,16	0,00	0,02	-0,11	-0,16	-0,01	-0,11	-0,14	0,41	0,41	0,59	-0,45	-0,83	-0,38	0,20	0,47	0,38	0,53
N138R	-0,54	0,08	0,02	0,28	0,03	-0,19	0,27	-0,01	-0,07	0,00	0,00	0,00	-1,07	-0,78	-0,34	0,60	0,09	0,28	1,32
N138S	-0,84	-0,13	0,00	0,09	0,01	-0,06	0,02	0,02	-0,04	0,10	0,32	0,20	-0,42	-0,77	-0,35	0,17	0,43	0,34	0,49
N138T	-0,95	-0,10	0,01	0,06	-0,01	-0,13	0,03	-0,13	-0,27	-0,15	0,08	0,03	-0,13	-0,72	-0,33	0,13	0,35	0,31	0,37
N138V	-1,17	-0,17	-0,01	-0,26	-0,30	-0,28	-0,26	-0,25	-0,59	-0,20	-0,10	-0,06	-0,77	-0,80	-0,33	0,05	0,18	0,13	0,23
N138W	-1,18	-0,17	0,00	-0,20	-0,25	-0,28	-0,25	-0,29	-0,54	-0,41	-0,24	-0,07	-0,23	-0,66	-0,29	0,04	0,10	0,09	0,15
N138Y	-1,27	-0,17	-0,01	-0,34	-0,37	-0,34	-0,41	-0,38	-0,61	-0,65	-0,19	-0,14	-0,75	-0,78	-0,34	0,03	0,07	0,08	0,15
Y139A	-0,06	-0,50	0,02	-0,02	-0,01	0,06	0,11	0,05	-0,03	-0,37	-0,56	-0,31	-0,39	0,05	0,19	0,30	0,42	0,06	0,75
Y139C	0,25	-0,08	0,81	0,20	0,35	0,38	0,20	0,27	0,16	-0,47	-0,17	-0,18	-0,32	0,16	0,29	0,35	0,36	0,08	0,67
Y139D	-0,11	-0,46	0,14	0,00	-0,02	0,00	0,19	0,08	-0,01	-0,55	-0,55	-0,85	-0,10	-0,20	-0,18	0,19	0,25	0,11	0,47
Y139E	-0,50	-1,12	0,09	-0,21	-0,16	-0,11	-0,23	-0,35	-0,41	-1,13	-1,13	-1,04	-0,26	0,06	-0,03	0,09	0,13	0,05	0,29
Y139F	0,71	0,11	-0,04	0,06	0,08	0,06	0,16	0,14	0,10	1,63	0,99	0,58	0,44	0,12	0,11	0,00	0,00	0,00	0,12
Y139G	-0,13	0,03	-0,05	0,02	-0,04	-0,03	-0,06	-0,02	0,06	-0,50	-0,32	-0,60	-0,02	-0,23	-0,14	0,22	0,32	0,00	0,38
Y139H	-0,05	-0,20	0,03	0,01	0,04	0,03	-0,08	0,00	-0,02	-0,44	-0,52	-0,66	-0,24	0,04	0,01	0,26	0,41	0,05	0,69
Y139I	-0,24	-0,41	-0,03	-0,11	-0,08	-0,07	-0,03	-0,05	-0,13	-0,03	-0,03	-0,03	-0,19	-0,32	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,32
Y139K	0,21	0,00	0,15	0,11	0,16	0,13	0,36	0,09	0,14	-0,18	0,00	0,00	-0,48	-0,22	0,16	0,56	0,39	0,06	1,06
Y139L	0,18	-0,84	-0,05	0,10	0,02	0,04	0,16	0,18	-0,11	0,69	0,02	-0,12	0,20	-0,31	-0,14	0,12	0,15	0,15	0,26
Y139M	-0,13	-0,41	-0,03	-0,11	-0,10	-0,08	-0,04	-0,03	-0,11	0,03	0,01	-0,06	-0,19	-0,26	-0,16	0,00	0,00	0,00	0,63
Y139N	-0,51	-0,86	-0,06	-0,13	-0,15	-0,19	-0,17	-0,37	-0,33	-0,88	-1,18	-1,10	-0,22	-0,19	-0,12	0,14	0,20	0,04	0,37
Y139P	-0,10	-0,44	-0,11	-0,08	-0,12	-0,07	0,01	0,02	0,01	-0,13	-0,13	-0,26	-0,17	-0,35	-0,29	0,23	0,45	0,07	0,51
Y139Q	-0,04	-0,35	-0,04	-0,11	-0,11	-0,07	-0,01	-0,03	-0,03	-0,27	-0,33	-0,34	-0,09	-0,09	-0,12	0,00	0,00	0,00	0,57
Y139R	0,11	0,14	0,07	0,12	0,09	0,08	0,11	0,07	0,05	-0,36	-0,35	-0,33	-0,48	-0,06	0,01	0,42	0,40	0,04	0,95
Y139S	-0,28	-0,19	0,19	-0,01	-0,04	0,00	-0,07	-0,09	0,02	-0,38	-0,56	-0,39	-0,22	0,14	0,06	0,25	0,40	0,08	0,71
Y139T	-0,15	-0,19	-0,07	0,03	-0,03	0,00	0,06	0,03	0,08	-0,38	-0,47	-0,47	0,03	-0,29	-0,21	0,20	0,32	0,12	0,46
Y139V	0,33	-0,17	-0,04	0,07	0,08	0,06	0,05	0,24	0,25	0,24	0,46	0,39	0,30	-0,24	-0,10	0,12	0,18	0,15	0,24
Y139W	0,45	0,57	0,49	0,14	0,11	0,06	0,11	0,27	0,23	1,23	1,44	1,11	0,33	0,41	0,30	0,12	0,19	0,15	0,28
L140A	-0,16	-0,12	-0,01	-0,01	-0,10	-0,07	0,37	0,24	0,03	-0,21	-0,15	-0,04	-0,87	-0,74	-0,25	0,36	0,58	0,53	0,45
L140C	-0,53	0,14	0,05	0,13	0,19	0,21	0,05	-0,15	-0,08	-0,63	-0,47	-0,36	-0,74	-0,50	-0,13	0,11	0,17	0,10	0,27
L140D	-0,91	-0,19	-0,05	0,04	0,09	0,01	-0,22	-0,08	-0,05	-0,53	-0,31	-0,27	-1,60	-0,73	-0,29	0,22	0,37	0,25	0,32
L140E	-0,88	-0,15	-0,03	0,05	0,09	0,00	0,02	-0,12	-0,14	-0,51	-0,48	-0,33	-1,51	-0,72	-0,25	0,24	0,47	0,38	0,41
L140F	0,20	-0,11	0,01	-0,03	-0,01	-0,03	0,06	0,05	0,50	0,86	0,19	0,35	-0,06	-0,42	-0,17	0,08	0,20	0,15	0,23
L140G	-1,27	-0,18	-0,04	-0,17	-0,33	-0,31	0,08	0,01	-0,15	-0,28	-0,07	-0,04	-1,55	-0,72	-0,25	0,65	0,47	0,53	0,84
L140H	-1,12	-0,16	-0,03	-0,10	-0,10	-0,12	0,11	0,14	0,37	-0,62	-0,43	-0,38	-1,18	-0,72	-0,24	0,14	0,33	0,25	0,33
L140I	-0,12	-0,13	-0,01	-0,08	-0,04	-0,07	-0,01	0,13	0,30	-0,13	-0,10	-0,17	-0,39	-0,57	-0,21	0,07	0,14	0,13	0,22
L140K	-1,33	-0,17	-0,01	-0,02	-0,06	-0,10	0,14	0,19	0,34	-0,55	-0,34	-0,28	-1,65	-0,74	-0,25	0,10	0,12	0,10	0,28
L140M	-0,14	-0,02	-0,01	-0,04	0,01	-0,12	0,02	0,04	0,04	-0,55	-0,47	-0,26	-0,71	-0,43	-0,21	0,10	0,20	0,15	0,41
L140N	-0,77	-0,15	-0,03	-0,06	-0,08	-0,08	0,10	0,07	0,19	-0,66	-0,49	-0,38	-1,42	-0,74	-0,26	0,17	0,33	0,27	0,34
L140P	-1,27	-0,07	-0,02	-0,32	-0,29	-0,27	-0,07	-0,33	-0,40	-0,73	-0,59	-0,48	-1,59	-0,72	-0,24	0,08	0,21	0,17	0,45
L140Q	-0,65	-0,45	-0,05	-0,17	-0,18	-0,14	0,13	0,17	0,09	-0,61	-0,58	-0,53	-0,83	-0,24	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,23
L140R	-1,28	-0,16	-0,02	-0,03	-0,14	-0,19	0,09	0,33	0,70	-0,49	-0,29	-0,29	-1,52	-0,71	-0,24	0,11	0,17	0,13	0,29
L140S	-0,86	-0,16	-0,01	-0,11	-0,12	-0,15	0,02	-0,05	-0,03	-0,75	-0,50	-0,43	-1,52	-0,71	-0,24	0,08	0,14	0,13	0,22
L140T	-0,60	-0,16	0,00	-0,05	-0,05	-0,05	0,03	0,14	0,26	-0,52	-0,49	-0,40	-1,10	-0,71	-0,24	0,12	0,20	0,16	0,29
L140V	-0,29	-0,12	0,00	-0,03	-0,07	-0,04	0,04	0,21	0,70	-0,36	-0,41	-0,12	-0,17	-0,59	-0,21	0,13	0,21	0,13	0,24
L140W	-0,05	-0,11	0,00	-0,06	-0,18	-0,08	0,21	0,02	0,47	0,14	0,09	0,02	-0,43	-0,40	-0,20	0,10	0,23	0,22	0,30
L140Y	-0,53	-0,13	0,00	-0,02	-0,04	-0,06	0,07	0,45	0,65	-0,23	-0,34	-0,31	-0,28	-0,60	-0,21	0,13	0,36	0,26	0,33
S141A	-1,36	-0,26	-0,01	-0,35	-0,40	-0,36	-0,11	-0,16	-0,51	0,20	0,29	0,37	-1,10	-0,77	-0,25	0,19	0,54	0,39	0,38
S141C	-1,56	-0,27	-0,01	-0,38	-0,43	-0,35	-0,23	-0,49	-0,40	-0,64	-0,50	-0,23	-1,07	-0,70	-0,15	0,04	0,10	0,07	0,17
S141D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,04
S141E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,08
S141F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,08	0,08	0,06
S141G	-1,56	-0,28	-0,01	-0,33	-0,38	-0,35	-0,35	-0,45	-0,51	-0,83	-0,73	-0,16	-0,82	-0,76	-0,23	0,03	0,14	0,00	0,11
S141H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
S141I	-0,78	0,03	-0,01	-0,25	-0,29	-0,26	-0,45	-0,23	-0,36	-0,74	-0,65	-0,42	-0,06	-0,02	0,03	0,04	0,15	0,12	0,14
S141K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,04
S141L	-	0,42	0,14	0,02	-0,04	-0,01	0,30	0,20	0,05	0,28	0,24	0,33	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02
S141M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
S141N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,08
S141P	-1,55	-0,27	-0,01	-0,43	-0,42	-0,36	-0,22	-0,40	-0,67	-0,74	-0,61	-0,41	-1,21	-0,75	-0,23	0,05	0,25	0,20	0,21
S141Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,06
S141R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,04	0,03	0,04
S141T	-1,42	-0,25	-0,01	-0,40	-0,42	-0,36	-0,14	-0,42	-0,58	-0,59	-0,59	-0,34	-1,35	-0,81	-0,26	0,03	0,12	0,09	0,22
S141V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,08
S141W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,03	0,06
S141Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
R142A	-0,68	-0,11	-0,01	-0,13	-0,18	-0,17	0,01	0,06	0,34	-0,57	-0,54	-0,28	0,10	-0,40	-0,19	0,06	0,14	0,11	0,17
R142C	-0,57	0,50	0,14	-0,06	-0,01	-0,04	-0,10	0,06	0,35	-0,41	-0,42	-0,09	0,12	0,44	0,40	0,05	0,11	0,11	0,16
R142D	-0,76	0,16	0,00	-0,02	-0,13	-0,23	-0,09	-0,14	0,00	-0,28	-0,34	-0,13	-1,07	-0,65	-0,23	0,23	0,48	0,45	0,45
R142E	-0,75	0,26	0,02	-0,09	-0,10	-0,12	-0,03	-0,04	0,18	-0,60	-0,51	-0,14	0,03	0,24	0,13	0,11	0,24	0,22	0,28
R142F	0,03	-0,01	-0,05	-0,10	-0,06	-0,11	0,07	0,17	0,56	-0,03	-0,14	-0,17	0,02	0,05	0,16	0,00	0,00	0,00	0,10
R142G	-1,46	-0,20	-0,01	-0,24	-0,30	-0,34	-0,12	-0,13	0,18	-0,65	-0,60	-0,19	-0,53	-0,80	-0,22	0,06	0,10	0,09	0,15
R142H	-0,13	1,45	0,60	0,29	0,26	0,25	0,07	-0,01	0,10	-0,04	-0,01	0,33	-1,32	-0,53	0,19	0,31	0,50	0,39	0,60
R142I	-0,36	0,49	0,05	-0,12	-0,09	-0,13	-0,12	0,20	0,56	-0,42	-0,50	-0,29	-0,12	0,96	0,96	0,04	0,09	0,08	0,10
R142K	-0,04	0,13	-0,01	-0,06	-0,03	-0,03	-0,10	-0,09	-0,07	-0,32	0,01	-0,06	0,06	0,20	0,16	0,12	0,25	0,19	0,28
R142L	-0,84	-0,15	-0,01	-0,21	-0,19	-0,20	-0,22	0,00	-0,02	-0,61	-0,67	-0,25	0,04	-0,25	-0,14	0,08	0,17	0,19	0,19
R142M	-0,11	0,17	-0,01	-0,04	-0,08	-0,05	-0,27	-0,11	0,38	-0,24	-0,56	-0,08	0,73	0,41	0,51	0,06	0,14	0,13	0,15
R142N	-0,30	-0,12	-0,01	-0,05	-0,07	-0,06	0,13	0,04	0,57	-0,24	-0,16	0,02	0,83	-0,23	-0,15	0,06	0,14	0,10	0,15
R142P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,07	0,07	0,10
R142Q	0,19	0,13	-0,01	-0,03	-0,02	-0,13	0,15	0,15	0,53	-0,14	-0,07	-0,02	0,94	0,78	0,29	0,05	0,15	0,13	0,12
R142S	-0,75	-0,16	-0,01	-0,11	-0,17	-0,12	-0,07	-0,15	0,49	-0,35	-0,59	-0,22	0,34	-0,67	-0,24	0,04	0,10	0,11	0,15
R142T	-0,38	-0,01	-0,01	-0,11	-0,10	-0,12	0,05	0,01	0,41	-0,41	-0,51	-0,15	0,50	-0,06	-0,06	0,05	0,13	0,11	0,15
R142V	-0,49	0,28	-0,01	-0,16	-0,12	-0,10	-0,08	0,01	0,41	-0,66	-0,62	-0,13	0,27	0,62	0,64	0,05	0,09	0,10	0,13
R142W	-0,67	-0,08	-0,01	-0,24	-0,19	-0,24	-0,20	-0,18	0,16	-0,66	-0,48	-0,22	0,36	0,19	0,11	0,05	0,09	0,10	0,14
R142Y	-0,51	0,52	0,07	-0,18	-0,12	-0,11	0,11	-0,08	0,23	-0,36	-0,53	-0,17	0,19	0,47	0,51	0,05	0,10	0,09	0,14
L143A	-1,82	-0,24	-0,01	-0,41	-0,42	-0,38	-0,41	-0,54	-0,70	-1,29	-1,01	-0,70	-1,25	-0,66	-0,28	0,01	0,03	0,03	0,11
L143C	-1,79	-0,22	-0,01	-0,39	-0,40	-0,37	-0,13	-0,41	-0,67	-0,77	-0,43	-0,35	-1,22	-0,83	-0,32	0,06	0,20	0,18	0,24

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
L143D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
L143E	-1,82	-0,22	0,00	-0,41	-0,39	-0,38	-0,62	-0,52	-0,67	-1,29	-1,00	-0,70	-1,39	-0,81	-0,30	0,01	0,00	0,01	0,12
L143F	-1,80	-0,24	-0,02	-0,41	-0,42	-0,38	-0,21	-0,48	-0,72	-0,69	-0,54	-0,40	-1,45	-0,85	-0,33	0,04	0,16	0,15	0,19
L143G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,09
L143H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,10
L143I	-1,29	-0,21	-0,03	-0,15	-0,21	-0,21	-0,26	-0,30	-0,51	-0,74	-0,32	-0,26	0,21	-0,60	-0,22	0,06	0,11	0,09	0,14
L143K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01	-0,01	0,00	0,05
L143M	-1,02	-0,15	0,00	-0,06	-0,12	-0,11	-0,09	0,08	-0,20	-0,04	-0,18	-0,01	-0,15	-0,74	-0,27	0,12	0,29	0,22	0,29
L143N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,07
L143P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
L143Q	-1,77	-0,21	0,00	-0,40	-0,40	-0,37	-0,04	-0,37	-0,65	-0,20	-0,10	-0,20	-1,59	-0,85	-0,29	0,07	0,21	0,14	0,24
L143R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,05
L143S	-1,78	-0,23	-0,02	-0,40	-0,41	-0,37	-0,21	-0,51	-0,66	-0,82	-0,70	-0,43	-1,50	-0,79	-0,29	0,03	0,09	0,10	0,18
L143T	-1,80	-0,18	0,00	-0,36	-0,39	-0,38	-0,15	-0,41	-0,67	-0,61	-0,26	-0,38	-1,54	-0,80	-0,28	0,05	0,14	0,14	0,19
L143V	-1,62	-0,20	0,01	-0,19	-0,29	-0,31	-0,06	-0,14	-0,37	-0,21	-0,26	-0,06	-0,86	-0,79	-0,31	0,07	0,18	0,25	0,25
L143W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
L143Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,01	0,08
D144A	-0,33	-0,04	-0,01	0,13	0,03	-0,01	-0,26	-0,43	-0,71	0,87	0,53	0,64	-0,24	-0,59	-0,15	0,21	0,42	0,36	0,53
D144C	-0,15	0,16	0,04	0,11	0,12	0,05	0,20	-0,08	-0,19	-0,08	-0,28	0,11	-0,04	-0,18	0,08	0,17	0,41	0,38	0,49
D144E	0,06	0,04	0,01	-0,01	0,00	0,00	-0,15	-0,26	-0,33	-0,01	-0,06	0,02	0,00	-0,12	-0,13	0,10	0,28	0,25	0,40
D144F	-0,54	-0,27	-0,07	-0,13	-0,18	-0,25	-0,15	-0,29	-0,56	0,53	0,01	-0,27	-0,83	-0,49	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,26
D144G	-0,79	-0,07	0,00	-0,03	-0,16	-0,18	0,17	-0,12	-0,71	0,61	0,46	0,31	-0,33	-0,66	-0,25	0,09	0,30	0,22	0,44
D144H	0,00	0,00	0,15	0,48	0,23	0,38	-0,68	-0,86	-1,04	0,00	0,00	0,00	-1,03	-0,30	0,13	0,53	0,25	0,14	1,27
D144I	0,10	0,53	0,04	0,35	0,20	0,17	-0,56	-0,90	-1,23	-0,20	0,00	0,43	-1,04	-0,47	-0,07	0,27	0,36	0,35	0,86
D144K	-0,12	0,74	0,09	0,28	0,19	0,23	-0,21	-0,49	-0,72	0,00	0,00	0,00	-0,89	-0,53	-0,17	0,31	0,39	0,34	0,95
D144L	-0,80	-0,10	0,01	-0,01	-0,14	-0,13	0,04	-0,21	-0,74	0,22	0,21	0,27	-0,29	-0,62	-0,20	0,15	0,40	0,36	0,60
D144M	-0,58	-0,07	0,02	0,05	-0,09	-0,12	0,23	-0,01	-0,50	0,49	0,63	0,29	-0,23	-0,63	-0,19	0,16	0,37	0,32	0,52
D144N	0,00	0,49	0,07	0,38	0,27	0,23	-0,69	-1,01	-1,21	-0,26	0,00	0,00	-1,04	-0,41	-0,15	0,40	0,27	0,23	0,94
D144P	-0,95	-0,11	0,00	-0,18	-0,28	-0,26	0,24	0,06	-0,63	0,46	0,22	0,08	-0,56	-0,62	-0,20	0,08	0,21	0,16	0,36
D144Q	0,37	0,27	0,02	0,24	0,32	0,29	-0,55	-0,73	-0,88	0,00	0,00	0,00	-1,07	-0,07	-0,03	0,39	0,33	0,24	0,82
D144R	-0,40	0,66	0,58	0,35	0,27	0,26	-0,12	-0,49	-0,74	0,00	0,00	0,00	-1,03	-0,25	0,01	0,44	0,34	0,25	1,21
D144S	-0,32	0,15	0,01	0,37	0,17	0,11	-0,34	-0,47	-0,48	0,82	0,67	0,65	-0,96	-0,46	-0,07	0,38	0,29	0,22	0,74
D144T	-0,20	-0,05	0,00	0,10	0,02	0,00	-0,31	-0,54	-0,68	-0,31	0,31	0,31	-1,02	-0,52	-0,11	0,14	0,32	0,22	0,70
D144V	-0,04	-0,04	0,01	0,22	0,10	0,07	-0,52	-0,70	-1,01	0,36	0,13	0,62	-0,57	-0,43	-0,12	0,22	0,40	0,39	0,42
D144W	-0,14	0,68	0,08	0,17	-0,06	-0,15	-0,08	-0,38	-0,72	-0,35	0,00	0,35	-0,97	-0,31	-0,09	0,39	0,41	0,32	1,07
D144Y	-0,18	0,46	0,04	0,16	0,06	0,00	0,06	-0,44	-0,68	0,13	0,00	0,39	-1,02	-0,43	-0,13	0,44	0,32	0,25	1,11
G145A	-1,89	-0,29	-0,02	-0,46	-0,53	-0,41	-0,06	-0,32	-0,58	-0,38	-0,27	-0,24	-1,37	-0,82	-0,29	0,06	0,12	0,09	0,18
G145C	-1,79	-0,24	0,03	-0,39	-0,51	-0,40	-0,04	-0,36	-0,47	-0,54	-0,56	-0,19	-0,90	-0,90	-0,40	0,10	0,27	0,23	0,24
G145D	-1,86	-0,30	0,00	-0,49	-0,49	-0,41	-0,22	-0,23	-0,43	-0,16	-0,14	-0,25	-1,33	-0,80	-0,29	0,03	0,10	0,10	0,11
G145E	-1,26	-0,15	0,00	-0,37	-0,40	-0,30	-0,11	-0,29	-0,48	-0,60	-0,39	-0,16	-0,79	-0,40	-0,10	0,09	0,22	0,21	0,23
G145F	-1,15	-0,36	-0,09	-0,41	-0,36	-0,33	-0,27	-0,51	-0,57	-0,45	-0,53	-0,61	-1,08	-0,58	-0,36	0,00	0,00	0,00	0,11
G145H	-1,83	-0,25	-0,01	-0,33	-0,51	-0,40	-0,09	-0,29	-0,61	0,15	0,16	-0,12	-1,27	-0,94	-0,33	0,05	0,15	0,12	0,18
G145I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,00	0,05
G145K	-1,91	-0,27	-0,02	-0,48	-0,53	-0,40	-0,26	-0,43	-0,65	-0,44	-0,47	-0,30	-1,41	-0,96	-0,42	0,04	0,07	0,05	0,18
G145L	-1,09	-0,30	-0,07	-0,35	-0,33	-0,27	-0,09	-0,39	-0,48	-0,77	-0,66	-0,56	-0,71	-0,42	-0,23	0,00	0,00	0,00	0,13
G145M	-1,89	-0,25	-0,02	-0,44	-0,53	-0,40	-0,32	-0,39	-0,59	-0,96	-0,79	-0,47	-1,30	-0,96	-0,46	0,02	0,07	0,05	0,14
G145N	-1,42	-0,21	-0,02	-0,31	-0,46	-0,34	0,08	-0,17	-0,59	0,60	0,76	0,32	-0,85	-0,38	0,15	0,04	0,15	0,12	0,13
G145P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,07
G145Q	-1,12	-0,35	-0,09	-0,41	-0,35	-0,32	-0,33	-0,49	-0,65	-0,51	-0,58	-0,61	-1,25	-0,67	-0,40	0,00	0,00	0,00	0,25
G145R	-1,91	-0,27	-0,02	-0,46	-0,54	-0,41	-0,30	-0,47	-0,64	-0,12	-0,06	-0,14	-1,35	-0,73	-0,16	0,05	0,08	0,07	0,19
G145S	-1,76	-0,25	-0,03	-0,45	-0,52	-0,40	-0,09	-0,39	-0,64	-0,20	0,02	-0,19	-1,26	-0,63	-0,05	0,05	0,13	0,10	0,16
G145T	-1,96	-0,29	-0,03	-0,49	-0,54	-0,41	-0,24	-0,40	-0,64	-1,46	-0,90	-0,59	-1,29	-0,94	-0,42	0,02	0,03	0,01	0,14
G145V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,07
G145W	-1,95	-0,30	-0,01	-0,49	-0,54	-0,40	-0,25	-0,43	-0,62	-1,50	-1,22	-0,61	-1,34	-0,94	-0,43	0,02	0,04	0,02	0,12
G145Y	-1,82	-0,30	-0,01	-0,31	-0,48	-0,40	-0,19	-0,33	-0,67	-0,29	-0,03	0,18	-1,26	-0,70	-0,18	0,25	0,50	0,43	0,67
A146C	-0,91	-0,28	-0,06	-0,10	-0,16	-0,18	0,22	0,10	-0,23	0,46	0,27	0,13	-0,39	-0,47	-0,32	0,00	0,00	0,00	0,27
A146D	-1,16	-0,18	-0,04	-0,39	-0,36	-0,34	-0,65	-0,68	-0,63	-0,80	-0,84	-0,88	-1,12	-0,92	-0,44	0,02	0,04	0,04	0,25
A146E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,02	0,10
A146F	-1,17	-0,20	-0,04	-0,42	-0,38	-0,35	-0,63	-0,70	-0,65	-0,85	-0,89	-0,90	-1,15	-0,78	-0,24	0,02	0,06	0,03	0,21
A146G	-0,20	-0,13	-0,02	-0,01	0,00	-0,02	-0,06	0,03	-0,05	0,03	0,00	0,11	-0,22	-0,56	-0,42	0,14	0,41	0,00	0,43
A146H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,08
A146I	-1,17	0,58	-0,04	-0,41	-0,38	-0,35	-0,42	-0,60	-0,59	-0,67	-0,74	-0,81	-1,27	-1,07	-0,54	0,08	0,25	0,22	0,28
A146K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
A146L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,09
A146M	-1,17	-0,19	-0,04	-0,41	-0,38	-0,36	-0,51	-0,58	-0,60	-0,82	-0,76	-0,87	-1,25	-0,88	-0,35	0,10	0,51	0,33	0,46
A146N	-1,17	-0,13	-0,04	-0,39	-0,38	-0,35	-0,57	-0,66	-0,62	-0,84	-0,91	-0,90	-1,14	-0,75	-0,28	0,01	0,02	0,02	0,11
A146P	-1,17	-0,19	-0,04	-0,36	-0,38	-0,34	-0,59	-0,60	-0,57	-0,85	-0,91	-0,90	-1,47	-1,19	-0,63	0,00	0,01	0,01	0,10
A146Q	-1,07	-0,19	-0,03	-0,42	-0,38	-0,35	-0,64	-0,70	-0,65	-0,83	-0,87	-0,90	-1,10	-1,16	-0,73	0,01	0,02	0,02	0,13
A146R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,06
A146S	-1,15	-0,18	-0,04	-0,16	-0,27	-0,32	-0,08	-0,20	-0,38	-0,15	-0,03	-0,07	-0,87	-0,95	-0,44	0,14	0,35	0,31	0,39
A146T	-1,17	-0,19	-0,04	-0,42	-0,38	-0,36	-0,44	-0,64	-0,61	-0,75	-0,84	-0,90	-1,21	-0,78	-0,25	0,03	0,18	0,15	0,22
A146V	-1,17	-0,20	-0,04	-0,40	-0,37	-0,36	-0,20	-0,47	-0,57	-0,51	-0,63	-0,75	-1,25	-0,98	-0,40	0,09	0,39	0,31	0,34
A146W	-1,17	-0,20	-0,04	-0,40	-0,38	-0,36	-0,62	-0,69	-0,63	-0,84	-0,88	-0,90	-1,23	-0,86	-0,30	0,04	0,20	0,09	0,31
A146Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
R147A	-0,61	-0,17	-0,01	-0,08	-0,23	-0,22	-0,11	-0,09	-0,06	-0,21	-0,22	-0,13	-0,08	-0,62	-0,25	0,10	0,31	0,25	0,31
R147C	-0,35	-0,10	-0,01	-0,01	-0,09	-0,13	-0,07	0,02	0,03	-0,15	-0,28	-0,11	0,20	-0,40	-0,23	0,14	0,46	0,37	0,39
R147D	-1,21	-0,20	-0,02	-0,32	-0,33	-0,25	0,05	-0,11	-0,28	-0,09	-0,35	-0,36	-0,81	-0,82	-0,35	0,11	0,33	0,29	0,30
R147E	-0,69	-0,34	-0,09	-0,35	-0,35	-0,32	0,04	0,01	-0,10	0,00	-0,18	-0,34	-0,59	-0,77	-0,41	0,00	0,00	0,00	0,18
R147F	-0,54	-0,18	-0,01	-0,12	-0,19	-0,20	-0,08	-0,12	-0,12	-0,19	-0,20	-0,27	-0,12	-0,82	-0,32	0,07	0,21	0,15	0,28
R147G	-1,34	-0,20	-0,02	-0,30	-0,33	-0,25	0,05	-0,20	-0,51	-0,33	-0,65	-0,55	-1,10	-0,73	-0,27	0,08	0,26	0,18	0,29
R147H	-0,33	-0,14	-0,01	-0,09	-0,10	-0,11	0,03	-0,02	-0,04	-0,13	-0,19	-0,25	-0,10	-0,64	-0,25	0,09	0,28	0,25	0,33
R147I	-1,06	-0,18	-0,01	-0,20	-0,32	-0,24	0,04	0,04	-0,15	-0,06	-0,20	-0,20	-0,21	-0,70	-0,23	0,13	0,38	0,35	0,34
R147K	0,26	-0,11	-0,07	-0,07	0,00	-0,01	0,03	0,00	0,04	0,47	0,22	0,02	-0,07	-0,41	-0,25	0,00	0,00	0,00	0,23
R147L	-0,14	0,01	-0,01	-0,01	-0,06	-0,06	-0,07	-0,02	-0,07	-0,24	-0,30	-0,17	0,10	-0,32	-0,23	0,10	0,27	0,23	0,26
R147M	-0,07	-0,45	-0,05	-0,15	-0,16	-0,20	0,05	0,12	0,06	0,04	0,03	-0,08	-0,30	-0,18	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,17
R147N	-0,32	-0,15	-0,01	-0,05	-0,10	-0,11	-0,01	0,02	-0,04	0,01	-0,26	-0,12	0,03	-0,63	-0,30	0,12	0,35	0,32	0,34
R147P	-1,43	-0,21	0,00	-0,27	-0,33	-0,25	-0,37	-0,48	-0,56	-1,13	-1,33	-0,68	-1,25	-0,84	-0,32	0,01	0,01	0,01	0,12
R147Q	-0,69	-0,18	-0,02	-0,13	-0,23	-0,21	-0,05	-0,02	-0,11	-0,30	-0,32	-0,29	-0,40	-0,76	-0,27	0,10	0,31	0,21	0,36
R147S	-0,79	-0,18	-0,01	-0,16	-0,24	-0,23	0,01	-0,05	-0,11	-0,11	-0,24	-0,18	-0,24	-0,74	-0,29	0,10	0,32	0,24	0,30
R147T	-0,67	-0,17	-0,01	-0,11	-0,25	-0,20	0,20	0,08	-0,28	0,18	-0,13	-0,24	-1,00	-0,93	-0,26	0,09	0,23	0,10	0,24
R147V	-0,84	-0,19	-0,02	-0,16	-0,28	-0,25	0,07	-0,11	-0,19	-0,31	-0,47	-0,30	-0,40	-0,80	-0,31	0,10	0,33	0,28	0,39
R147W	0,18	0,11	-0,07	-0,04	-0,02	-0,08	0,09	0,07	0,11	0,02	-0,10	-0,09	-0,25	-0,34	-0,26	0,00	0,00	0,00	0,17
R147Y	-0,25	-0,09	0,00	-0,04	-0,12	-0,14	-0,04	-0,03	-0,12	-0,29	-0,31	-0,16	0,00	-0,58	-0,26	0,11	0,32	0,27	0,36
N148A	-1,48	-0,19	-0,02	-0,37	-0,33	-0,32	-0,29	-0,42	-0,62	-0,58	-0,74	-0,53	-1,17	-0,71	-0,28	0,01	0,05	0,02	0,18
N148C	-1,40	-0,21	-0,02	-0,35	-0,33	-0,32	0,03	-0,14	-0,52	-0,10	-0,29	-0,23	-1,01	-0,65	-0,24	0,09	0,31	0,22	0,30
N148D	-1,50	-0,22	-0,02	-0,36	-0,33	-0,31	-0,14	-0,29	-0,62	-0,35	-0,58	-0,30	-0,97	-0,73	-0,26	0,11	0,43	0,31	0,30
N148E	-1,47	-0,21	-0,03	-0,37	-0,33	-0,30	-0,10	-0,22	-0,53	-0,21	-0,12	-0,20	-1,07	-0,63	-0,20	0,05	0,14	0,10	0,16
N148F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,10
N148G	-1,45	-0,20	-0,02	-0,32	-0,33	-0,31	-0,21	-0,36	-0,61	-0,37	-0,70	-0,44	-1,10	-0,75	-0,26	0,05	0,16	0,04	0,32
N148H	-1,44	-0,20	-0,03	-0,27	-0,33	-0,29	-0,03	-0,29	-0,57	-0,26	-0,10	-0,14	-1,07	-0,69	-0,25	0,06	0,21	0,13	0,20

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
N148I	-1,53	-0,20	-0,02	-0,37	-0,33	-0,30	-0,21	-0,35	-0,56	-0,99	-0,83	-0,43	-0,99	-0,57	-0,17	0,01	0,04	0,02	0,13
N148K	-1,50	-0,21	-0,02	-0,34	-0,33	-0,31	-0,36	-0,42	-0,59	-0,88	-0,87	-0,52	-1,03	-0,72	-0,25	0,02	0,05	0,04	0,25
N148L	-1,48	-0,21	-0,02	-0,34	-0,33	-0,32	-0,18	-0,32	-0,64	-0,38	-0,56	-0,37	-0,98	-0,70	-0,25	0,04	0,13	0,08	0,19
N148M	-1,46	-0,20	-0,02	-0,36	-0,33	-0,32	-0,17	-0,33	-0,57	-0,28	-0,34	-0,32	-1,00	-0,60	-0,22	0,04	0,13	0,08	0,22
N148P	-1,51	-0,20	-0,02	-0,32	-0,30	-0,29	-0,35	-0,49	-0,62	-0,97	-0,92	-0,51	-1,06	-0,73	-0,26	0,02	0,04	0,02	0,20
N148Q	-1,47	-0,20	-0,03	-0,33	-0,33	-0,32	-0,30	-0,42	-0,67	-0,71	-0,76	-0,34	-1,08	-0,52	-0,21	0,03	0,09	0,05	0,21
N148R	-1,50	-0,19	-0,01	-0,31	-0,33	-0,29	-0,36	-0,44	-0,62	-0,95	-0,97	-0,50	-0,86	-0,64	-0,23	0,03	0,05	0,04	0,17
N148S	-1,46	-0,21	-0,03	-0,35	-0,31	-0,30	-0,24	-0,36	-0,64	-0,45	-0,66	-0,40	-1,14	-0,71	-0,26	0,05	0,14	0,07	0,31
N148T	-1,51	-0,21	-0,03	-0,33	-0,33	-0,29	-0,23	-0,41	-0,59	-0,77	-0,86	-0,51	-0,97	-0,80	-0,33	0,02	0,05	0,02	0,19
N148V	-1,04	-0,38	-0,08	-0,44	-0,44	-0,32	-0,26	-0,41	-0,50	-0,88	-0,74	-0,67	-0,40	-0,19	-0,07	0,00	0,00	0,00	0,11
N148W	-1,11	-0,35	-0,11	-0,40	-0,38	-0,34	-0,34	-0,56	-0,63	-0,67	-0,61	-0,60	-1,19	-0,52	-0,19	0,00	0,00	0,00	0,12
N148Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,00	0,08
V149A	-1,10	-0,21	-0,01	-0,03	-0,21	-0,22	0,02	0,04	-0,17	0,04	0,02	0,12	-0,42	-0,71	-0,21	0,18	0,45	0,38	0,45
V149C	-0,17	-0,16	-0,01	0,05	-0,01	0,00	0,03	0,03	-0,02	-0,17	0,05	0,18	-0,19	-0,46	-0,21	0,18	0,44	0,37	0,36
V149D	-1,25	-0,23	-0,02	-0,30	-0,34	-0,27	-0,12	-0,07	-0,43	-0,34	-0,23	-0,11	-0,47	-0,71	-0,27	0,23	0,50	0,45	0,47
V149E	-0,16	-0,13	-0,01	0,02	-0,04	-0,06	-0,02	-0,02	0,00	-0,34	0,01	0,02	-0,15	-0,35	-0,21	0,20	0,52	0,42	0,48
V149F	-1,15	-0,22	-0,01	-0,07	-0,14	-0,21	-0,03	-0,10	-0,52	-0,05	0,24	0,00	-0,37	-0,64	-0,20	0,12	0,34	0,30	0,34
V149G	-1,32	-0,21	-0,02	-0,33	-0,31	-0,26	-0,24	-0,49	-0,72	-0,73	-1,01	-0,72	-1,15	-0,77	-0,40	0,05	0,10	0,00	0,28
V149H	-1,12	-0,21	-0,01	-0,01	-0,14	-0,12	0,04	0,06	-0,28	-0,03	0,02	0,16	-0,31	-0,70	-0,26	0,16	0,44	0,39	0,37
V149I	0,05	0,19	0,00	-0,01	-0,02	0,00	0,02	-0,06	0,01	0,08	0,53	-0,03	0,24	0,27	0,10	0,12	0,33	0,30	0,30
V149K	-1,12	-0,21	-0,01	-0,06	-0,19	-0,18	-0,05	-0,05	-0,46	0,11	0,16	0,23	-0,68	-0,70	-0,23	0,16	0,41	0,34	0,40
V149L	-0,44	-0,20	-0,01	-0,03	-0,05	-0,06	-0,12	-0,03	-0,11	-0,19	-0,12	-0,01	0,06	-0,60	-0,23	0,12	0,28	0,28	0,32
V149M	-0,66	-0,20	-0,01	-0,03	-0,07	-0,10	-0,07	0,01	-0,20	-0,29	-0,22	0,17	-0,22	-0,64	-0,20	0,16	0,39	0,32	0,52
V149N	-1,31	-0,22	-0,02	-0,21	-0,35	-0,29	0,00	-0,11	-0,45	0,18	0,14	0,04	-0,65	-0,68	-0,22	0,14	0,37	0,30	0,35
V149P	-1,40	-0,24	-0,01	-0,34	-0,35	-0,29	-0,42	-0,52	-0,70	-1,16	-1,10	-0,76	-1,07	-0,75	-0,27	0,04	0,05	0,05	0,24
V149Q	-0,70	-0,32	-0,08	-0,12	-0,12	-0,18	0,01	-0,07	-0,29	0,60	0,22	-0,03	-0,62	-0,51	-0,17	0,00	0,00	0,00	0,32
V149R	-1,17	-0,21	-0,01	-0,06	-0,18	-0,17	-0,04	-0,04	-0,46	0,07	0,13	0,51	-0,66	-0,66	-0,21	0,20	0,39	0,37	0,39
V149S	-1,25	-0,22	-0,01	-0,21	-0,32	-0,28	-0,02	-0,03	-0,37	-0,07	-0,24	-0,02	-0,75	-0,74	-0,24	0,19	0,48	0,42	0,44
V149T	-0,90	-0,19	-0,01	-0,11	-0,18	-0,16	0,01	-0,01	-0,16	-0,24	-0,06	0,06	-0,26	-0,57	-0,18	0,21	0,55	0,45	0,44
V149W	-1,26	-0,22	-0,01	-0,18	-0,26	-0,28	-0,15	-0,19	-0,57	-0,26	-0,47	-0,32	-0,59	-0,63	-0,21	0,10	0,27	0,26	0,33
V149Y	-0,90	-0,21	-0,01	-0,09	-0,13	-0,18	-0,03	-0,08	-0,27	-0,28	0,08	-0,03	-0,16	-0,69	-0,26	0,19	0,50	0,43	0,47
Q150A	-0,41	-0,16	0,01	0,12	0,12	0,04	0,10	0,09	0,18	0,14	0,37	0,83	-0,57	-0,44	-0,16	0,32	0,48	0,54	0,60
Q150C	0,23	0,06	0,02	0,20	0,30	0,20	0,02	1,07	0,14	0,79	0,87	0,96	0,41	0,50	0,29	0,17	0,39	0,35	0,30
Q150D	-1,20	-0,20	-0,01	-0,20	-0,25	-0,22	-0,03	-0,15	-0,46	-0,33	-0,10	0,04	-0,86	-0,75	-0,42	0,10	0,28	0,18	0,28
Q150E	-0,07	-0,09	-0,01	0,01	0,02	-0,01	0,07	0,18	0,11	-0,38	-0,49	-0,12	0,37	0,33	-0,01	0,11	0,30	0,25	0,27
Q150F	-0,90	-0,17	-0,01	0,01	0,03	-0,10	0,27	0,82	-0,30	0,37	0,10	0,19	-0,62	-0,75	-0,48	0,06	0,17	0,16	0,17
Q150G	-0,75	-0,18	-0,01	0,07	0,02	-0,04	0,02	0,16	0,01	0,09	0,24	0,47	0,01	-0,53	-0,18	0,15	0,39	0,22	0,32
Q150H	-0,59	-0,16	-0,01	0,04	-0,01	-0,04	0,06	0,12	-0,26	0,24	0,46	0,41	-0,12	-0,46	-0,14	0,12	0,32	0,28	0,33
Q150I	-0,59	-0,17	-0,01	-0,01	-0,01	-0,04	-0,05	-0,06	-0,19	0,07	0,01	0,06	-0,15	-0,58	-0,34	0,06	0,18	0,14	0,21
Q150K	-0,41	0,07	0,01	0,26	0,34	0,25	0,31	0,22	0,10	0,00	0,00	0,00	-1,18	-0,44	0,11	0,66	0,09	0,22	1,13
Q150L	-0,08	0,11	0,00	0,01	0,06	0,01	0,09	0,06	0,06	0,04	0,01	0,20	0,01	0,17	0,08	0,09	0,24	0,23	0,30
Q150M	-0,15	-0,12	-0,01	0,08	0,01	-0,02	0,18	0,00	-0,03	0,22	0,39	0,24	-0,12	-0,16	-0,22	0,09	0,21	0,22	0,27
Q150N	-0,88	-0,30	-0,08	-0,11	-0,17	-0,22	-0,12	-0,21	-0,41	0,49	0,19	-0,05	-0,19	-0,46	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,49
Q150P	-0,36	-0,16	-0,01	0,13	0,05	-0,02	0,20	0,13	0,13	0,20	0,25	0,63	-0,52	-0,57	-0,20	0,28	0,47	0,49	0,60
Q150R	0,08	-0,03	0,01	0,19	0,19	0,11	0,23	0,21	-0,02	0,36	0,32	0,70	-0,38	-0,22	-0,08	0,21	0,47	0,47	0,54
Q150S	-0,58	-0,17	0,00	0,11	0,04	-0,07	0,11	0,17	0,14	0,27	0,23	0,69	-0,55	-0,61	-0,21	0,31	0,46	0,43	0,61
Q150T	-0,83	-0,14	-0,01	0,04	0,00	-0,08	0,06	0,14	-0,06	0,09	0,28	0,26	-0,05	-0,58	-0,20	0,13	0,32	0,30	0,35
Q150V	-0,45	-0,17	-0,01	-0,04	-0,03	-0,05	-0,15	0,01	-0,14	0,05	-0,10	0,25	0,08	-0,47	-0,21	0,10	0,22	0,21	0,27
Q150W	-0,67	-0,12	0,01	-0,04	-0,06	-0,16	0,13	0,08	-0,31	0,09	-0,06	0,11	-0,02	-0,38	-0,11	0,07	0,19	0,19	0,25
Q150Y	-0,75	-0,16	0,00	-0,06	-0,07	-0,14	0,06	-0,01	-0,22	-0,33	0,02	0,06	-0,18	-0,52	-0,20	0,09	0,26	0,20	0,32
I151A	-0,13	-1,73	-0,05	-0,44	-0,39	-0,35	-0,08	-0,35	-0,81	0,07	-0,18	-0,56	-0,81	-0,46	-0,20	0,22	0,40	0,00	0,48
I151C	-0,90	-0,29	-0,06	-0,11	-0,24	-0,22	-0,08	-0,14	-0,30	0,33	0,21	0,07	-0,28	-0,30	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,48
I151D	-0,73	-1,83	-0,06	-0,39	-0,41	-0,37	-0,27	-0,45	-0,69	-1,26	-1,56	-1,54	-0,97	-0,52	-0,27	0,01	0,03	-0,02	0,19
I151E	-1,16	-0,34	-0,08	-0,41	-0,35	-0,31	-0,33	-0,49	-0,68	-0,56	-0,62	-0,63	-1,14	-0,51	-0,21	0,00	0,00	0,00	0,72
I151F	-0,24	-1,66	-0,05	-0,14	-0,34	-0,33	-0,22	-0,30	-0,79	0,03	0,25	0,02	-0,64	-0,43	-0,22	0,14	0,23	0,01	0,27
I151G	-0,61	-1,83	-0,04	-0,37	-0,41	-0,33	-0,26	-0,46	-0,71	-0,88	-1,43	-1,41	-0,89	-0,46	-0,22	0,02	0,03	0,00	0,16
I151H	-0,48	-1,83	-0,05	-0,44	-0,40	-0,38	-0,16	-0,48	-0,86	-0,41	-0,92	-1,37	-0,84	-0,46	-0,21	0,10	0,26	0,02	0,37
I151K	-0,55	-1,80	-0,04	-0,45	-0,40	-0,36	-0,20	-0,49	-0,85	-0,62	-1,04	-1,39	-0,78	-0,45	-0,19	0,22	0,50	-0,01	0,54
I151L	-0,19	-0,75	-0,04	-0,02	0,00	-0,03	-0,05	-0,13	-0,35	-0,29	-0,23	-0,21	-0,09	-0,23	-0,13	0,21	0,27	0,00	0,53
I151M	-0,09	-1,47	-0,04	0,03	-0,05	-0,17	0,01	-0,03	-0,36	-0,25	-0,24	-0,30	-0,16	-0,39	-0,18	0,27	0,30	-0,01	0,53
I151N	-0,54	-1,83	-0,03	-0,39	-0,41	-0,36	-0,30	-0,47	-0,73	-1,08	-1,59	-1,52	-0,93	-0,52	-0,27	0,04	0,05	0,00	0,23
I151P	-0,69	-1,83	-0,04	-0,30	-0,38	-0,29	-0,37	-0,49	-0,75	-1,36	-1,71	-1,52	-0,98	-0,51	-0,28	0,01	0,01	-0,03	0,11
I151Q	-0,37	-1,81	-0,05	-0,44	-0,40	-0,36	-0,12	-0,45	-0,80	-0,26	-0,44	-1,06	-0,81	-0,46	-0,21	0,26	0,55	-0,01	0,59
I151R	-1,02	-0,31	-0,05	-0,30	-0,31	-0,24	-0,25	-0,35	-0,43	-0,65	-0,50	-0,45	-0,70	-0,31	-0,12	0,00	0,00	0,00	0,66
I151S	-0,43	-1,82	-0,05	-0,43	-0,40	-0,35	-0,20	-0,48	-0,88	-0,40	-1,11	-1,45	-0,86	-0,47	-0,22	0,07	0,15	0,04	0,30
I151T	0,05	-1,78	-0,05	-0,28	-0,39	-0,36	-0,02	-0,12	-0,58	0,12	0,16	-0,14	-0,76	-0,47	-0,22	0,27	0,37	-0,02	0,48
I151V	-0,05	-0,20	-0,01	-0,02	0,02	0,00	-0,10	-0,15	-0,28	-0,25	-0,18	-0,28	0,04	-0,03	-0,07	0,22	0,21	0,01	0,51
I151W	-0,53	-1,83	-0,04	-0,40	-0,41	-0,33	-0,25	-0,55	-0,84	-0,88	-1,47	-1,55	-0,89	-0,47	-0,23	0,05	0,07	0,03	0,21
I151Y	-0,67	-1,83	-0,05	-0,46	-0,41	-0,39	-0,17	-0,49	-0,76	-0,58	-0,95	-1,25	-0,90	-0,50	-0,23	0,08	0,11	0,03	0,29
H152A	0,14	-0,20	-0,02	0,10	0,04	0,07	0,12	0,15	0,28	-0,10	-1,11	0,19	-0,39	-0,51	-0,23	0,29	0,69	0,63	0,51
H152C	-0,21	-0,36	-0,03	-0,03	-0,05	-0,12	0,17	0,15	0,02	0,08	-0,03	-0,03	-0,22	-0,18	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,36
H152D	-0,07	-0,23	-0,05	-0,03	-0,05	-0,03	0,03	0,06	0,14	-0,01	-0,02	0,03	0,18	-0,02	-0,06	0,00	0,00	0,00	0,74
H152E	0,09	-0,09	0,00	0,09	0,08	0,09	0,15	0,22	0,22	-0,29	-0,35	0,09	-0,83	-0,16	-0,12	0,21	0,64	0,55	0,56
H152F	-0,56	-0,21	-0,02	-0,01	-0,11	-0,11	0,01	0,00	-0,14	0,15	-0,23	-0,02	-0,16	-0,73	-0,28	0,06	0,21	0,15	0,22
H152G	0,07	-0,20	-0,02	0,12	0,07	0,06	0,10	0,17	0,32	0,18	0,05	0,35	-0,05	-0,63	-0,24	0,20	0,62	0,33	0,50
H152I	-0,73	-0,22	-0,02	-0,11	-0,12	-0,07	-0,11	-0,02	-0,39	0,28	-0,67	0,15	-0,51	-0,76	-0,27	0,05	0,17	0,15	0,24
H152K	-0,32	-0,19	-0,02	0,13	0,10	0,08	0,21	0,31	0,10	0,76	0,00	1,03	-0,46	-0,62	-0,19	0,22	0,58	0,52	0,49
H152L	-0,87	-0,22	-0,02	-0,07	-0,14	-0,12	-0,07	0,06	-0,15	0,05	-0,03	-0,02	-0,56	-0,76	-0,28	0,07	0,27	0,20	0,25
H152M	-0,27	-0,22	-0,01	0,03	-0,08	-0,04	0,11	0,10	0,05	0,21	0,10	0,23	-0,10	-0,77	-0,28	0,09	0,33	0,25	0,29
H152N	0,05	-0,17	-0,01	0,07	0,04	0,08	-0,05	0,11	0,17	0,34	0,03	-0,03	0,04	-0,55	-0,25	0,12	0,43	0,37	0,38
H152P	-0,75	-0,24	-0,03	0,00	-0,11	-0,17	0,16	0,22	0,02	0,28	-0,08	0,41	-0,20	-0,76	-0,30	0,12	0,43	0,32	0,29
H152Q	0,07	-0,11	-0,02	0,20	0,08	0,11	0,09	0,17	0,22	0,14	-0,14	-0,01	-0,79	-0,30	-0,08	0,24	0,41	0,54	0,57
H152R	-0,16	-0,18	-0,01	0,16	0,10	0,10	0,26	0,02	0,00	-0,53	-1,69	-0,30	-1,34	-0,51	-0,07	0,41	0,41	0,52	0,74
H152S	0,22	-0,18	-0,02	0,14	0,11	0,08	0,22	0,17	0,42	0,39	0,55	0,31	-0,06	-0,47	-0,24	0,12	0,37	0,29	0,38
H152T	-0,10	-0,19	-0,02	0,08	0,02	0,03	0,18	0,09	0,11	0,00	0,15	0,33	-0,40	-0,66	-0,26	0,19	0,53	0,55	0,62
H152V	-0,49	-0,24	-0,03	-0,02	-0,09	-0,09	0,21	-0,05	-0,12	-0,43	0,31	0,12	0,03	-0,76	-0,29	0,10	0,32	0,25	0,25
H152W	-0,70	-0,22	-0,01	-0,10	-0,21	-0,21	-0,12	-0,15	-0,29	-0,14	0,02	-0,06	-0,54	-0,76	-0,28	0,05	0,17	0,12	0,21
H152Y	-0,23	-0,21	-0,01	-0,01	-0,09	-0,07	-0,15	-0,10	-0,07	0,31	0,27	-0,07	-0,01	-0,73	-0,29	0,05	0,17	0,13	0,18
G153A	-0,57	-0,32	-0,02	0,01	-0,04	-0,03	-0,02	0,05	-0,07	-0,09	0,02	-0,04	-0,10	-0,57	-0,21	0,06	0,22	0,18	0,32
G153C	-0,33	0,21	0,07	0,16	0,21	0,15	-0,09	0,01	-0,12	-0,37	-0,35	0,07	0,13	-0,08	0,03	0,07	0,27	0,11	0,35
G153D	-0,15	-0,06	0,04	0,11	0,13	0,07	0,05	0,02	0,01	-0,35	-0,34	0,07	-0,48	-0,11	-0,13	0,17	0,53	0,47	0,68
G153E	-0,18	-0,06	-0,01	0,06	0,05	0,06	0,08	0,09	-0,01	-0,10	-0,40	0,01	-0,06	-0,34	-0,18	0,12	0,38	0,28	0,47
G153F	-0,48	-0,21	0,00	-0,02	-0,03	-0,04	0,09	0,03	-0,12	-0,19	-0,16	-0,10	-0,20	-0,33	-0,10	0,08	0,26	0,20	0,39
G153H	-0,15	-0,10	0,01	0,06	0,05	0,06	0,07	0,01	0,08	-0,05	0,06	0,10	0,07	-0,28	-0,10	0,05	0,17	0,12	0,24
G153I	-0,91	-0,34	-0,02	-0,03	-0,09	-0,09	0,33	0,16	-0,28	-0,32	-0,26	-0,07	-0,27	-0,71	-0,23	0,07	0,26	0,18	0,31
G153K	-0,10	-0,24	0,02	0,06	0,07	0,08	0,06	0,05	0,03	0,99	0,78	0,65	0,15	-0,26	-0,08	0,09	0,35	0,21	0,33
G153L	-0,65	-0,31	-0,01	-0,08	-0,08	-0,07	-0,07	-0,10	-0,24	-0,21	-0,31	-0,20	-0,22	-0,53	-0,18	0,05	0,16	0,13	0,28
G153M	-0,53	-0,31	-0,02	-0,01	-0,05	-0,03	-0,06	-0,03	-0,20	-0,02	-0,11	-0,13	-0,17	-0,56	-0,18	0,06	0,20	0,18	0,31
G153N	-0,01	-0,18	-0,06	-0,03	-0,01	0,01	0,06	0,06	0,14	0,30	0,35	0,26	-0,06	-0,08	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,59
G153P	-1,36	-0,37	-0,02	-0,30	-0,29	-0,24	-0,06	-0,36	-0,64	-0,08	-0,22	-0,39	-0,98	-0,68	-0,23	0,15	0,52	0,44	0,53

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
G153Q	-0,77	-0,26	-0,02	-0,12	-0,12	-0,10	-0,25	-0,31	-0,32	-0,66	-0,84	-0,25	-0,70	-0,32	-0,16	0,09	0,28	0,23	0,32
G153R	-0,36	-0,28	-0,01	0,06	0,05	0,07	0,09	-0,02	0,00	0,46	0,27	0,42	-0,24	-0,49	-0,15	0,11	0,35	0,26	0,41
G153S	-0,28	-0,29	-0,01	-0,01	-0,03	-0,01	-0,06	0,02	-0,04	0,07	0,01	0,07	0,08	-0,56	-0,20	0,07	0,24	0,18	0,29
G153T	-0,51	-0,29	0,01	0,01	-0,02	0,00	0,06	0,02	-0,13	-0,12	0,04	-0,06	-0,04	-0,57	-0,20	0,07	0,26	0,19	0,30
G153V	-0,78	-0,32	-0,01	-0,01	-0,08	-0,05	0,11	0,03	-0,24	-0,02	-0,14	0,02	-0,01	-0,65	-0,22	0,08	0,30	0,22	0,37
G153W	-0,43	-0,15	0,05	0,05	-0,08	-0,03	0,07	0,04	-0,17	-0,29	-0,46	0,22	-0,52	-0,07	0,10	0,15	0,47	0,34	0,60
G153Y	-0,15	-0,12	0,03	0,07	0,05	0,05	0,11	0,03	0,10	-0,05	-0,20	0,22	-0,32	-0,12	-0,03	0,14	0,46	0,39	0,53
V154A	-1,11	-0,38	-0,02	0,05	-0,07	-0,16	-0,02	-0,08	-0,22	0,15	0,34	0,26	-0,29	-0,65	-0,26	0,13	0,41	0,42	0,43
V154C	-0,80	-0,29	0,03	0,01	-0,04	-0,09	0,13	0,08	-0,15	0,03	0,01	0,14	-0,22	-0,62	-0,23	0,13	0,44	0,32	0,42
V154D	-1,02	-0,35	-0,02	0,02	-0,08	-0,16	0,16	0,11	-0,07	-0,10	-0,18	0,04	-0,38	-0,69	-0,27	0,18	0,42	0,36	0,63
V154E	-1,02	-0,35	-0,01	0,01	-0,03	-0,09	0,09	0,08	-0,09	-0,10	-0,15	-0,03	-0,31	-0,67	-0,27	0,16	0,46	0,41	0,50
V154F	-1,26	-0,37	-0,02	-0,07	-0,22	-0,28	0,04	-0,08	-0,41	0,17	0,29	0,10	-0,74	-0,71	-0,27	0,07	0,24	0,21	0,25
V154G	-1,42	-0,38	-0,02	-0,39	-0,36	-0,33	-0,12	-0,32	-0,66	0,09	0,01	-0,15	-0,94	-0,68	-0,26	0,10	0,38	0,25	0,48
V154H	-0,88	-0,47	-0,11	-0,10	-0,19	-0,15	-0,10	-0,15	-0,42	0,03	0,13	0,01	-0,48	-0,37	-0,31	0,00	0,00	0,00	0,82
V154I	-0,18	-0,14	0,00	-0,02	0,05	0,02	-0,05	-0,10	-0,13	-0,23	-0,03	0,04	0,01	-0,33	-0,13	0,11	0,39	0,31	0,45
V154K	-1,20	-0,36	-0,02	-0,07	-0,25	-0,28	-0,01	-0,02	-0,34	0,26	0,26	0,45	-0,57	-0,66	-0,26	0,23	0,54	0,50	0,69
V154L	-0,80	-0,32	-0,02	0,09	0,05	-0,03	-0,09	-0,03	-0,25	0,26	0,13	0,13	-0,09	-0,61	-0,24	0,13	0,44	0,37	0,41
V154M	-1,15	-0,37	-0,02	-0,09	-0,14	-0,16	-0,07	-0,18	-0,45	0,05	0,21	0,02	-0,38	-0,67	-0,26	0,08	0,30	0,24	0,33
V154N	-1,36	-0,33	-0,02	-0,37	-0,36	-0,33	0,05	-0,07	-0,50	-0,12	0,02	-0,05	-0,92	-0,68	-0,27	0,11	0,47	0,39	0,51
V154P	-0,33	-0,22	-0,01	0,06	-0,01	0,00	0,02	0,09	0,09	0,26	0,33	0,28	-0,44	-0,45	-0,21	0,14	0,50	0,41	0,48
V154Q	-1,38	-0,37	-0,02	-0,16	-0,21	-0,23	-0,14	-0,26	-0,55	-0,10	-0,48	-0,04	-0,82	-0,69	-0,28	0,07	0,29	0,23	0,35
V154R	-1,03	-0,31	-0,01	-0,14	-0,32	-0,32	0,17	0,00	-0,12	0,64	0,57	0,32	-0,62	-0,67	-0,26	0,13	0,35	0,29	0,45
V154S	-1,35	-0,37	-0,02	-0,16	-0,24	-0,28	0,01	0,01	-0,29	0,36	0,35	0,20	-0,66	-0,67	-0,26	0,12	0,39	0,33	0,44
V154T	-0,35	-0,31	-0,01	-0,08	-0,02	-0,03	0,01	0,02	-0,09	0,09	0,20	0,13	-0,31	-0,60	-0,25	0,15	0,54	0,43	0,54
V154W	-1,28	-0,38	-0,02	-0,15	-0,23	-0,29	-0,05	0,02	-0,49	0,15	0,10	-0,02	-0,80	-0,66	-0,24	0,10	0,38	0,28	0,38
V154Y	-1,20	-0,37	-0,02	-0,06	-0,16	-0,24	-0,01	-0,05	-0,36	0,01	0,19	0,01	-0,57	-0,66	-0,26	0,13	0,41	0,37	0,46
G155A	-1,18	-0,30	-0,02	-0,17	-0,19	-0,15	-0,23	-0,23	-0,45	-0,42	-0,30	-0,20	-0,04	-0,63	-0,24	0,04	0,10	0,12	0,21
G155C	-0,86	-0,22	0,01	0,15	0,17	0,33	-0,11	-0,11	-0,34	-0,09	0,06	0,22	-0,43	-0,45	-0,21	0,07	0,14	0,15	0,27
G155D	-1,10	-0,29	-0,02	0,09	0,13	0,06	-0,06	-0,06	-0,35	-0,43	-0,48	-0,26	0,11	-0,48	-0,34	0,06	0,16	0,16	0,23
G155E	-1,57	-0,35	-0,04	-0,23	-0,30	-0,24	-0,27	-0,26	-0,41	-0,75	-0,44	-0,37	-0,16	-0,60	-0,14	0,03	0,08	0,09	0,13
G155F	-1,56	-0,29	-0,03	-0,26	-0,34	-0,30	-0,15	-0,14	-0,11	-0,43	-0,35	-0,24	-0,82	-0,60	-0,15	0,02	0,03	0,03	0,14
G155H	-0,70	-0,31	-0,02	0,05	-0,02	0,04	-0,16	-0,13	-0,31	-0,05	0,07	-0,06	-0,06	-0,43	-0,22	0,06	0,17	0,15	0,22
G155I	-1,63	-0,34	-0,02	-0,30	-0,35	-0,28	-0,38	-0,41	-0,43	-0,48	-0,46	-0,31	-0,92	-0,74	-0,37	0,02	0,03	0,03	0,15
G155K	-0,74	-0,26	-0,02	-0,03	-0,06	-0,01	-0,06	-0,11	-0,22	0,18	-0,03	-0,12	0,05	-0,47	-0,27	0,10	0,40	0,29	0,43
G155L	-1,52	-0,32	-0,03	-0,26	-0,31	-0,24	-0,19	-0,23	-0,01	-0,11	0,03	-0,36	-0,58	-0,67	-0,24	0,03	0,05	0,08	0,18
G155M	-1,36	-0,31	-0,03	-0,22	-0,21	-0,18	-0,04	-0,05	-0,38	-0,42	-0,47	-0,29	0,26	-0,53	-0,19	0,05	0,15	0,13	0,22
G155N	-0,59	-0,29	-0,04	0,05	0,08	0,05	0,01	-0,10	-0,24	-0,31	-0,35	-0,14	0,15	-0,40	-0,16	0,07	0,17	0,12	0,20
G155P	-0,94	-0,29	-0,03	-0,09	-0,10	-0,04	-0,26	-0,32	-0,44	-0,14	-0,18	-0,17	-0,16	-0,36	-0,18	0,06	0,18	0,13	0,29
G155Q	-1,34	-0,31	-0,04	-0,22	-0,29	-0,12	-0,23	-0,12	-0,44	-0,30	-0,58	-0,25	-0,22	-0,52	-0,20	0,05	0,10	0,15	0,20
G155R	-0,21	-0,21	-0,02	0,06	-0,02	0,06	-0,15	-0,15	-0,30	0,59	0,60	0,13	0,08	-0,08	-0,03	0,05	0,19	0,16	0,24
G155S	0,09	0,52	0,04	0,01	-0,04	-0,02	0,03	0,13	-0,13	-0,21	-0,46	-0,16	-0,04	0,46	0,70	0,05	0,11	0,14	0,22
G155T	-0,35	0,07	-0,02	-0,16	-0,14	-0,09	-0,11	-0,06	-0,27	-0,49	-0,32	-0,31	-0,36	0,06	0,17	0,03	0,06	0,08	0,17
G155V	-1,54	-0,34	-0,03	-0,28	-0,32	-0,24	-0,31	-0,36	-0,44	-0,52	-0,45	-0,33	-0,86	-0,74	-0,27	0,02	0,04	0,04	0,16
G155W	-1,39	-0,18	0,02	-0,14	-0,24	-0,24	-0,05	-0,09	-0,03	-0,03	0,07	0,29	-0,87	-0,65	-0,25	0,03	0,04	0,05	0,19
G155Y	-1,53	-0,29	-0,02	-0,20	-0,24	-0,23	-0,16	-0,18	-0,26	-0,27	0,13	-0,02	-0,70	-0,69	-0,28	0,04	0,09	0,08	0,18
H156A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,02	0,05
H156C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
H156D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
H156E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
H156F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	0,01	0,05
H156G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
H156I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,07
H156K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
H156L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,06
H156M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
H156N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
H156P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
H156Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
H156R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,06
H156S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
H156T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,05
H156V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,05	0,06
H156W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,05
H156Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,06
I157A	-0,06	-0,99	-0,06	-0,18	-0,15	-0,12	-0,06	-0,11	-0,41	-0,37	-0,47	-0,36	0,17	-0,20	-0,16	0,05	0,20	0,16	0,27
I157C	-0,09	-0,88	-0,04	0,15	0,21	0,25	0,02	-0,06	-0,30	-0,12	-0,33	-0,05	-0,21	-0,18	-0,05	0,09	0,11	0,13	0,34
I157D	-0,90	-0,32	-0,07	-0,14	-0,16	-0,14	-0,27	-0,33	-0,41	-0,55	-0,37	-0,36	-0,57	-0,31	-0,09	0,00	0,00	0,00	0,09
I157E	-0,83	-0,33	-0,07	-0,05	-0,06	-0,04	-0,25	-0,29	-0,35	-0,45	-0,27	-0,23	-0,47	-0,37	-0,17	0,00	0,00	0,00	0,08
I157F	-0,20	-0,56	0,17	-0,22	-0,18	-0,22	-0,05	-0,25	-0,53	-0,83	-1,05	-0,61	-0,34	-0,21	0,04	0,02	0,04	0,04	0,16
I157G	-0,23	-1,45	-0,06	-0,17	-0,15	-0,15	0,05	0,01	-0,27	-0,36	-0,53	-0,29	0,05	-0,50	-0,21	0,07	0,40	0,10	0,54
I157H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,09
I157K	-0,22	-0,84	-0,04	-0,06	0,02	-0,03	-0,15	-0,31	-0,45	-0,19	-0,48	-0,20	-0,73	-0,53	-0,23	0,00	0,01	0,00	0,19
I157L	-0,09	-0,38	0,02	-0,06	-0,05	-0,06	0,06	0,07	0,09	-0,24	-0,42	-0,30	-0,21	-0,11	-0,07	0,16	0,41	0,37	0,79
I157M	0,25	-0,22	-0,05	-0,01	-0,02	0,02	0,03	0,02	0,21	0,08	0,06	0,01	-0,48	-0,26	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,38
I157N	-0,22	-1,48	-0,08	-0,12	-0,07	-0,10	-0,32	-0,40	-0,68	-0,53	-0,59	-0,29	0,32	-0,33	-0,13	0,03	0,08	0,08	0,16
I157P	-0,03	-1,66	-0,06	-0,07	-0,10	-0,11	-0,25	-0,29	-0,69	-0,55	-0,74	-0,62	-0,19	-0,62	-0,27	0,03	0,08	0,07	0,15
I157Q	-0,51	-0,32	-0,07	-0,03	-0,05	-0,05	-0,02	-0,06	-0,16	-0,05	-0,09	-0,06	0,01	-0,19	-0,06	0,00	0,00	0,00	0,11
I157R	-0,26	-1,24	-0,08	-0,16	-0,12	-0,14	-0,25	-0,33	-0,69	0,03	-0,11	0,37	0,82	0,01	0,20	0,07	0,14	0,13	0,16
I157S	-0,16	-1,39	-0,07	-0,11	-0,11	-0,09	-0,12	-0,20	-0,59	-0,27	-0,53	-0,27	-0,03	-0,37	-0,21	0,05	0,15	0,11	0,36
I157T	-0,27	-1,31	-0,08	-0,12	-0,10	-0,11	-0,09	-0,22	-0,46	-0,22	-0,51	-0,19	0,35	-0,21	-0,07	0,05	0,20	0,17	0,27
I157V	-0,12	-0,47	-0,05	-0,02	-0,03	0,00	0,00	-0,08	-0,26	-0,33	-0,38	-0,27	-0,14	-0,07	-0,07	0,08	0,20	0,19	0,45
I157W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
I157Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,09
G158A	-0,46	-0,25	0,00	-0,12	-0,12	-0,08	-0,10	-0,17	-0,30	-0,41	-0,07	-0,03	0,07	-0,48	-0,25	0,06	0,20	0,20	0,28
G158C	-0,67	-0,22	0,00	0,03	0,08	0,12	-0,17	-0,24	-0,38	-0,40	-0,31	0,22	-0,15	-0,28	-0,15	0,04	0,08	0,09	0,24
G158D	-0,49	-0,26	-0,02	0,09	0,20	0,19	-0,04	0,13	-0,08	0,03	0,01	0,06	0,72	-0,09	-0,06	0,12	0,29	0,22	0,25
G158E	-0,47	-0,01	0,01	0,07	0,12	0,09	-0,04	0,00	-0,20	-0,29	-0,44	0,16	-0,03	0,06	-0,05	0,13	0,35	0,31	0,37
G158F	-0,48	-0,29	-0,07	-0,08	-0,19	-0,19	0,05	0,12	0,24	0,18	0,12	0,14	-0,49	-0,71	-0,60	0,00	0,00	0,00	0,08
G158H	-0,85	-0,40	-0,01	-0,03	-0,12	-0,08	-0,16	-0,27	-0,42	-0,32	0,06	0,13	-0,12	-0,58	-0,26	0,09	0,26	0,26	0,38
G158I	-1,66	-0,44	-0,02	-0,35	-0,40	-0,35	-0,14	-0,19	-0,59	-0,32	-0,58	-0,10	-0,55	-0,78	-0,36	0,06	0,13	0,13	0,26
G158K	-0,16	-0,20	0,01	0,05	0,06	0,06	0,07	-0,20	-0,12	0,64	0,65	1,08	-0,02	-0,30	-0,08	0,11	0,35	0,34	0,45
G158L	-0,90	-0,35	0,01	-0,15	-0,20	-0,19	-0,18	-0,03	-0,18	0,56	0,42	0,23	-0,15	-0,68	-0,33	0,06	0,11	0,15	0,27
G158M	-0,22	-0,22	-0,05	-0,09	-0,10	-0,07	-0,03	-0,06	-0,08	0,36	0,27	0,15	-0,18	-0,27	-0,17	0,00	0,00	0,00	0,44
G158N	-0,68	-0,46	-0,05	-0,06	-0,09	-0,07	-0,11	-0,20	-0,32	0,17	0,14	0,11	-0,19	-0,28	-0,21	0,00	0,00	0,00	0,65
G158P	-1,62	-0,45	-0,02	-0,16	-0,30	-0,28	-0,04	-0,12	-0,52	-0,21	-0,12	0,10	-0,74	-0,72	-0,28	0,13	0,37	0,32	0,43
G158Q	0,02	-0,15	-0,01	-0,01	-0,01	0,01	0,13	-0,16	-0,06	-0,02	-0,05	0,01	0,39	0,17	-0,01	0,08	0,23	0,25	0,27
G158R	-0,04	-0,02	0,07	0,14	0,08	0,10	0,12	0,06	0,09	1,08	0,55	1,07	0,03	-0,05	0,03	0,14	0,35	0,32	0,43
G158S	-1,11	-0,41	-0,01	-0,11	-0,13	-0,12	0,12	-0,08	-0,23	-0,22	-0,04	-0,01	0,07	-0,61	-0,23	0,06	0,20	0,19	0,28
G158T	-1,15	-0,45	-0,01	-0,04	-0,10	-0,07	0,02	-0,10	-0,11	0,06	-0,20	0,34	-0,03	-0,57	-0,22	0,12	0,43	0,38	0,45
G158V	-1,54	-0,43	-0,02	-0,23	-0,31	-0,29	-0,12	-0,25	-0,57	-0,15	-0,37	0,19	-0,42	-0,78	-0,36	0,06	0,18	0,17	0,29

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
G158W	-1,02	-0,37	-0,02	-0,26	-0,31	-0,31	-0,13	-0,26	-0,51	-0,15	0,07	0,00	-0,19	-0,56	-0,21	0,03	0,08	0,08	0,16
G158Y	-1,49	-0,34	-0,01	-0,21	-0,22	-0,23	-0,20	-0,33	-0,53	-0,27	-0,18	0,74	0,04	-0,59	-0,18	0,05	0,17	0,16	0,32
L159A	-1,21	-0,18	-0,01	-0,35	-0,34	-0,31	-0,29	-0,48	-0,43	-0,75	-1,03	-0,82	-1,24	-0,83	-0,26	0,09	0,21	0,17	0,29
L159C	-1,26	-0,18	-0,01	-0,34	-0,34	-0,31	-0,32	-0,40	-0,42	-0,84	-0,90	-0,77	-1,06	-0,84	-0,28	0,08	0,19	0,18	0,32
L159D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,01	0,04
L159E	-1,23	-0,20	-0,01	-0,36	-0,34	-0,31	-0,23	-0,39	-0,37	-0,92	-1,03	-0,89	-1,21	-0,85	-0,28	0,03	0,05	0,05	0,13
L159F	-0,42	-0,14	-0,01	-0,01	-0,09	-0,15	-0,11	-0,18	-0,17	0,33	0,34	0,07	-0,08	-0,76	-0,24	0,10	0,34	0,26	0,42
L159G	-1,26	-0,19	-0,01	-0,35	-0,34	-0,31	-0,32	-0,44	-0,41	-0,93	-1,01	-0,83	-1,15	-0,82	-0,26	0,05	0,11	0,09	0,20
L159H	-1,20	-0,16	-0,01	-0,35	-0,34	-0,31	-0,10	-0,40	-0,38	-0,21	-0,35	-0,45	-1,01	-0,74	-0,22	0,05	0,14	0,14	0,19
L159I	-0,66	-0,30	-0,06	-0,01	-0,10	-0,11	-0,11	-0,10	-0,26	0,24	0,21	0,11	-0,12	-0,39	-0,22	0,00	0,00	0,00	0,44
L159K	-1,11	-0,14	-0,01	-0,35	-0,32	-0,29	-0,34	-0,45	-0,41	-0,80	-0,69	-0,61	-0,95	-0,77	-0,25	0,05	0,14	0,10	0,22
L159M	-0,11	-0,10	-0,01	0,04	0,02	0,02	0,00	-0,14	-0,08	0,28	0,12	0,48	0,04	0,13	-0,10	0,11	0,31	0,26	0,42
L159N	-1,17	-0,17	-0,01	-0,32	-0,33	-0,31	-0,38	-0,43	-0,42	-0,98	-1,06	-0,85	-0,95	-0,72	-0,24	0,02	0,04	0,04	0,13
L159P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,07
L159Q	-1,17	-0,15	-0,01	-0,35	-0,34	-0,31	-0,19	-0,39	-0,36	0,03	-0,14	-0,35	-0,33	-0,79	-0,25	0,11	0,32	0,24	0,30
L159R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,04
L159S	-1,18	-0,18	-0,01	-0,36	-0,34	-0,30	-0,31	-0,43	-0,42	-0,69	-0,96	-0,79	-1,16	-0,85	-0,29	0,07	0,16	0,12	0,23
L159T	-1,17	-0,17	-0,01	-0,35	-0,34	-0,31	-0,29	-0,45	-0,45	-0,41	-0,54	-0,61	-1,02	-0,87	-0,31	0,08	0,22	0,20	0,35
L159V	-1,23	-0,19	0,00	-0,30	-0,33	-0,30	-0,21	-0,42	-0,34	-0,10	-0,09	0,06	-0,61	-0,83	-0,27	0,10	0,31	0,23	0,34
L159W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,01	0,10
L159Y	-0,81	-0,14	-0,01	-0,25	-0,30	-0,29	-0,14	-0,27	-0,23	-0,28	-0,37	-0,08	-0,92	-0,84	-0,27	0,05	0,14	0,11	0,18
L160A	-1,75	-0,46	-0,04	-0,36	-0,38	-0,32	-0,47	-0,64	-0,69	-0,82	-0,93	-0,88	-1,15	-1,08	-0,26	0,03	0,13	0,09	0,11
L160C	-1,48	-0,43	-0,04	-0,18	-0,20	-0,19	-0,20	-0,29	-0,57	0,22	-0,10	0,50	-0,05	-0,98	-0,29	0,09	0,36	0,24	0,26
L160D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
L160E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,03	0,06
L160F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,06
L160G	-1,76	-0,45	-0,04	-0,37	-0,37	-0,32	-0,28	-0,60	-0,65	-1,06	-1,34	-1,12	-1,37	-1,10	-0,36	0,03	0,05	0,03	0,11
L160H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,01	0,06
L160I	-1,37	-0,39	-0,03	-0,24	-0,32	-0,30	0,09	-0,25	-0,40	0,07	-0,27	-0,22	-0,58	-0,99	-0,27	0,08	0,14	0,12	0,17
L160K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,04	0,04	0,08
L160M	-0,83	-0,39	-0,03	-0,07	-0,03	-0,05	-0,26	-0,36	-0,33	0,20	0,00	0,30	0,89	-0,12	-0,14	0,07	0,17	0,14	0,17
L160N	-1,71	-0,44	-0,04	-0,37	-0,37	-0,29	-0,44	-0,66	-0,66	-0,88	-1,05	-0,93	-1,18	-1,10	-0,31	0,04	0,06	0,04	0,13
L160P	-1,72	-0,45	-0,04	-0,33	-0,36	-0,32	-0,20	-0,59	-0,71	-0,84	-1,05	-1,10	-1,48	-1,08	-0,30	0,05	0,14	0,16	0,17
L160Q	-1,65	-0,42	-0,04	-0,34	-0,35	-0,30	-0,44	-0,63	-0,67	-0,35	-0,81	-0,76	-0,76	-1,04	-0,28	0,06	0,11	0,10	0,13
L160R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,00	0,04
L160S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,01	0,02	0,08
L160T	-1,64	-0,42	-0,04	-0,33	-0,36	-0,30	-0,17	-0,47	-0,60	-0,22	-0,41	-0,82	-0,96	-1,04	-0,29	0,09	0,31	0,23	0,23
L160V	-1,37	-0,42	-0,03	-0,23	-0,31	-0,29	0,00	-0,10	-0,41	-0,25	-0,35	-0,68	-0,49	-1,06	-0,32	0,08	0,20	0,16	0,24
L160W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,00	0,07
L160Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,00	0,00	0,05
Y161A	-0,15	-0,10	0,00	0,07	0,08	0,08	0,06	0,04	0,12	0,14	0,11	0,10	-0,49	-0,43	-0,03	0,54	-0,05	0,07	0,70
Y161C	-0,24	0,05	0,01	0,26	0,29	0,26	0,12	0,11	0,14	0,34	0,33	0,33	-0,31	-0,46	-0,25	0,56	-0,03	0,04	0,63
Y161D	0,03	-0,17	-0,05	-0,07	-0,10	-0,05	0,06	0,09	0,10	0,19	0,21	0,01	0,24	-0,15	-0,06	0,00	0,00	0,00	0,42
Y161E	-0,94	-0,28	-0,01	0,10	0,10	0,05	0,18	0,08	-0,06	-0,52	-0,30	0,01	0,15	-0,75	-0,57	0,27	0,40	0,21	0,51
Y161F	0,15	0,37	0,02	0,00	0,00	0,00	-0,02	-0,03	0,13	-0,11	-0,07	-0,06	1,02	0,40	0,01	0,21	0,32	0,35	0,36
Y161G	-0,41	-0,22	-0,01	0,06	0,11	0,11	0,13	0,08	0,15	0,05	0,06	0,22	-0,54	-0,51	-0,16	0,61	-0,04	0,04	0,87
Y161H	-0,11	-0,08	0,00	0,07	0,05	0,03	0,03	0,00	0,00	0,18	0,18	0,40	-0,52	-0,56	0,21	0,48	0,00	0,08	0,58
Y161I	-0,36	0,05	0,04	-0,08	-0,09	-0,10	-0,01	-0,07	-0,07	-0,24	0,04	-0,16	-0,48	-0,21	-0,21	0,38	0,16	0,08	0,63
Y161K	-0,38	-0,17	-0,01	0,08	0,09	0,07	0,05	0,00	0,08	0,26	0,33	0,34	-0,48	-0,82	-0,31	0,66	-0,08	0,10	0,86
Y161L	-0,02	0,23	0,00	0,03	0,02	-0,02	0,01	0,01	0,00	0,04	0,00	-0,13	-0,41	-0,20	-0,16	0,43	0,13	0,08	0,58
Y161M	0,06	0,03	0,00	0,09	0,08	0,07	0,02	-0,01	0,04	0,26	0,09	0,13	-0,36	-0,52	0,11	0,59	0,04	0,07	0,54
Y161N	-0,53	-0,05	0,00	0,00	0,01	0,00	0,02	-0,04	-0,02	-0,43	-0,31	-0,09	-0,51	-0,68	-0,20	0,05	-0,05	0,08	0,51
Y161P	-1,32	-0,24	-0,02	-0,33	-0,33	-0,31	-0,31	-0,42	-0,40	-0,82	-0,67	-0,41	0,21	-0,50	-0,56	0,00	0,05	0,26	0,27
Y161Q	-0,74	-0,14	0,06	0,06	0,05	0,05	0,06	-0,05	-0,03	-0,29	0,06	0,11	-0,53	-0,90	-0,39	0,65	0,00	0,08	1,16
Y161R	-0,39	-0,04	0,00	0,12	0,14	0,16	0,13	0,07	0,12	0,20	0,00	0,33	-0,50	-0,83	-0,34	0,65	-0,08	0,10	0,87
Y161S	-0,40	-0,21	-0,01	0,05	0,04	0,05	0,05	-0,02	0,00	-0,07	0,04	0,20	-0,49	-0,64	-0,19	0,63	-0,06	0,08	0,76
Y161T	-0,44	-0,16	0,00	0,08	0,08	0,07	0,02	-0,04	0,00	0,07	-0,03	0,06	-0,51	-0,48	-0,23	0,64	-0,05	0,08	0,83
Y161V	-0,53	-0,30	-0,06	-0,04	-0,07	-0,04	0,13	0,06	0,02	-0,29	-0,17	-0,13	-0,14	-0,28	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,86
Y161W	0,03	0,13	0,00	-0,04	-0,06	-0,07	-0,08	-0,09	-0,14	-0,20	-0,16	-0,06	0,29	0,11	0,07	0,21	0,38	0,29	0,34
S162A	-0,70	-0,10	0,03	-0,20	-0,13	-0,10	-0,21	-0,23	-0,28	-0,72	-0,35	-0,41	0,28	-0,59	-0,53	0,26	0,36	0,46	0,21
S162C	0,43	0,49	0,01	0,13	0,10	0,08	0,08	0,16	0,04	0,35	0,27	0,23	-0,11	-0,66	-0,49	0,15	0,23	0,40	0,40
S162D	0,15	-0,10	0,00	0,00	0,06	-0,01	0,01	0,02	0,05	-0,01	-0,13	-0,01	0,11	-0,13	-0,26	0,32	0,45	0,49	0,35
S162E	0,08	0,34	0,14	0,00	0,03	0,04	-0,03	0,06	0,08	0,12	0,03	-0,03	-0,07	-0,77	-0,64	0,27	0,46	0,40	0,36
S162F	-0,97	-0,35	-0,03	-0,18	-0,22	-0,23	0,10	0,05	-0,11	0,08	-0,14	-0,12	-0,54	-0,83	-0,56	0,10	0,14	0,32	0,26
S162G	-0,28	-0,03	-0,02	-0,04	0,01	-0,06	-0,07	0,03	0,03	-0,02	-0,12	-0,03	0,41	-0,83	-0,66	0,35	0,49	0,45	0,34
S162H	-0,31	0,15	0,03	0,00	-0,02	0,07	-0,08	-0,08	-0,06	-0,36	-0,10	-0,07	0,85	0,41	0,04	0,32	0,42	0,45	0,24
S162I	-0,38	-0,15	-0,04	-0,12	-0,07	-0,11	-0,09	-0,05	-0,21	-0,55	-0,18	-0,12	-0,85	-1,03	-0,72	0,05	0,08	0,18	0,29
S162K	0,15	-0,06	-0,01	0,04	0,04	0,01	-0,06	0,01	0,03	-0,09	-0,24	-0,05	-0,74	-0,19	-0,24	0,58	0,37	0,20	0,35
S162L	-0,21	-0,11	-0,03	-0,03	0,02	-0,02	-0,01	-0,04	-0,08	-0,07	-0,03	-0,05	-0,79	-0,78	-0,71	0,22	0,28	0,46	0,31
S162M	-0,11	-0,02	0,00	-0,04	-0,06	-0,08	-0,04	-0,09	-0,15	-0,56	-0,08	-0,17	-0,93	-0,92	-0,66	0,01	0,01	0,01	0,38
S162N	-0,69	-0,04	-0,03	-0,18	-0,15	-0,13	-0,25	-0,24	-0,25	-0,82	-0,25	-0,31	-0,32	-0,29	0,43	0,38	0,50	0,31	0,19
S162P	-0,05	0,00	0,00	-0,01	0,00	0,01	-0,04	-0,06	-0,13	0,16	-0,04	-0,24	-0,89	-0,87	-0,63	0,07	0,20	0,36	0,32
S162Q	0,21	-0,02	-0,01	0,00	0,02	0,02	0,12	0,11	0,02	-0,43	0,08	0,13	-0,09	-0,75	-0,55	0,33	0,47	0,32	0,35
S162R	-0,07	-0,02	-0,01	-0,01	-0,02	-0,03	0,03	0,01	-0,02	-0,28	-0,03	0,04	-0,82	0,20	0,14	0,51	0,40	0,18	0,32
S162T	-0,14	0,04	0,01	-0,04	0,00	-0,04	0,01	0,00	-0,03	-0,16	0,03	-0,09	-0,24	-0,85	-0,62	0,16	0,24	0,43	0,36
S162V	-0,54	-0,13	-0,02	-0,13	-0,08	-0,12	-0,01	0,01	-0,21	-0,45	-0,32	-0,29	-0,61	-0,92	-0,64	0,09	0,09	0,23	0,19
S162W	-0,26	-0,12	-0,01	-0,02	-0,02	-0,03	-0,06	0,01	-0,14	-0,14	-0,13	0,03	-0,73	-0,95	-0,68	0,13	0,19	0,34	0,33
S162Y	-0,15	0,09	0,03	-0,04	-0,02	0,02	0,02	0,00	-0,03	-0,01	0,02	-0,02	-0,30	-0,89	-0,64	0,18	0,28	0,47	0,46
S163A	-0,27	-0,15	0,00	0,00	-0,18	-0,13	0,13	-0,02	-0,09	-0,22	0,29	-0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50
S163C	-0,48	0,12	-0,02	0,06	0,08	0,09	0,13	0,12	0,03	0,54	0,12	0,09	0,41	-0,07	0,04	0,00	0,00	0,00	0,30
S163D	0,45	0,14	0,01	0,07	0,07	0,06	0,15	0,06	0,19	0,26	0,34	-0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35
S163E	0,24	-0,03	-0,01	0,15	0,08	0,13	0,00	0,03	0,12	-0,03	-0,13	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45
S163F	0,25	-0,14	-0,05	0,03	0,00	-0,01	0,43	0,35	0,41	0,13	0,14	0,11	0,10	-0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,13
S163G	-0,33	-0,13	-0,01	-0,05	-0,07	-0,07	-0,02	-0,13	-0,14	-0,12	-0,02	-0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25
S163H	-0,02	-0,09	-0,05	-0,08	-0,05	0,00	0,14	0,15	0,16	0,27	0,02	0,03	-0,08	0,02	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,38
S163I	-0,80	-0,04	0,08	-0,19	-0,19	-0,15	-0,08	-0,19	-0,29	-0,21	-0,44	-0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37
S163K	-0,04	0,08	0,03	0,07	0,08	0,10	0,06	-0,01	0,03	0,32	0,10	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39
S163L	0,16	-0,30	-0,04	-0,08	-0,07	-0,04	-0,01	-0,01	-0,06	0,11	0,07	-0,08	-0,09	-0,02	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,30
S163M	0,24	0,01	0,00	0,02	0,02	0,07	-0,11	0,02	0,02	0,04	-0,14	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38
S163N	-0,81	-0,23	-0,01	-0,16	-0,18	-0,13	-0,16	-0,20	-0,30	-0,15	-0,37	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29
S163P	-0,38	-0,12	0,00	-0,02	-0,07	-0,04	-0,03	-0,06	-0,19	-0,30	-0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40
S163Q	-0,03	-0,15	-0,05	-0,04	-0,03	-0,01	0,02	0,04	0,12	0,18	0,07	0,05	0,19	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	0,70
S163R	-0,60	-0,13	0,00	-0,02	-0,04	-0,03	0,03	-0,04	-0,19	0,12	0,04	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36
S163T	-0,41	-0,13	0,01	-0,03	-0,11	-0,10	0,04	-0,16	-0,16	0,34	0,10	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54
S163V	-1,09	-0,28	-0,02	-0,22	-0,27	-0,22	-0,13	-0,13	-0,39	-0,18	-0,23	-0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31
S163W	0,11	-0,03	0,00	0,05	0,03	0,06	-0,21	0,01	-0,04	0,01	0,19	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39
S163Y	0,15	0,07	0,00	0,01	0,06	0,07	0,01	0,00	-0,06	0,22	0,22	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42
Q164A	-0,34	-0,04	-0,04	-0,03	-0,03	-0,05	-0,12	-0,10	-0,07	-0,05	-0,05	-0,03	-0,10	0,12	0,05	0,06	0,04	0,14	0,25
Q164C	-0,20	-0,06	0,16	0,06	0,05	0,01	-0,15	-0,15	0,02	-0,28	-0,20	-0,12	0,09	0,15	0,09	0,05	0,04	0,14	0,21
Q164D	-0,48	-0,33	-0,06	-0,05	-0,07	-0,01	0,05	0,01	0,11	-0,06	-0,08	-0,02	0,42	-0,19	-0,14	0,00	0,00	0,00	0,42

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
Q164E	0,07	-0,06	0,01	0,00	0,00	-0,02	-0,01	0,02	-0,09	0,17	-0,07	-0,06	-0,12	0,07	0,01	0,09	0,04	0,17	0,29
Q164F	-0,54	-0,19	-0,04	-0,07	-0,09	-0,10	-0,16	-0,19	-0,14	-0,01	-0,19	-0,20	0,31	0,28	0,15	0,06	0,05	0,16	0,20
Q164G	-0,47	0,04	-0,02	0,00	-0,01	-0,03	-0,04	-0,04	-0,26	0,04	0,02	0,09	-0,16	0,01	0,03	0,11	0,10	0,00	0,34
Q164H	-0,42	-0,07	-0,02	-0,04	-0,05	-0,06	0,11	-0,15	-0,05	-0,16	-0,22	-0,10	-0,07	0,04	0,00	0,04	0,02	0,10	0,26
Q164I	-0,25	-0,22	-0,06	0,00	-0,04	0,00	0,19	0,01	0,21	0,61	0,27	0,20	0,30	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,13
Q164K	-0,03	0,01	0,04	0,04	0,07	0,06	-0,01	-0,02	-0,03	0,22	0,28	0,16	0,12	0,13	0,06	0,08	0,08	0,18	0,35
Q164L	-0,08	0,00	0,08	-0,02	0,00	-0,03	-0,08	-0,04	-0,11	-0,08	-0,18	-0,05	-0,14	-0,03	0,01	0,05	0,06	0,16	0,25
Q164M	-0,04	0,02	0,01	0,06	0,08	0,07	0,00	-0,18	-0,06	0,57	0,42	0,20	0,05	-0,03	-0,01	0,11	0,05	0,30	0,28
Q164N	-0,49	0,29	-0,05	0,00	0,02	0,00	-0,07	-0,09	-0,10	0,23	-0,02	0,02	0,01	0,14	0,08	0,05	0,03	0,09	0,24
Q164P	-0,38	-0,02	-0,03	0,01	0,01	-0,01	0,08	0,03	-0,13	-0,02	-0,09	0,02	0,12	0,09	0,03	0,08	0,06	0,20	0,30
Q164R	-0,29	-0,01	-0,03	0,03	0,00	0,01	-0,07	-0,13	-0,11	0,38	0,22	0,16	-0,18	-0,03	-0,01	0,08	0,07	0,24	0,30
Q164S	-0,31	0,09	-0,05	-0,01	-0,02	-0,04	0,03	-0,10	-0,10	-0,06	-0,04	-0,02	-0,14	-0,06	-0,01	0,07	0,05	0,13	0,27
Q164T	-0,14	0,05	-0,03	-0,02	-0,02	-0,02	-0,06	-0,15	0,01	-0,04	0,01	0,03	-0,30	-0,05	-0,02	0,07	0,03	0,13	0,25
Q164V	-0,27	-0,02	-0,02	-0,08	-0,07	-0,09	-0,13	-0,07	-0,03	-0,21	-0,21	-0,13	-0,09	-0,05	-0,08	0,09	0,06	0,20	0,25
Q164W	-0,46	-0,27	-0,04	-0,01	-0,06	-0,05	0,20	0,10	0,22	0,00	0,03	0,04	-0,10	-0,26	-0,16	0,00	0,00	0,00	0,13
Q164Y	-0,32	0,14	0,01	-0,01	-0,01	-0,05	0,17	-0,17	-0,10	-0,21	-0,16	-0,12	0,18	0,21	0,12	0,08	0,05	0,13	0,20
V165A	-0,03	-0,10	0,00	-0,01	-0,01	0,00	0,05	0,07	0,05	0,51	0,32	0,27	-0,03	-0,35	-0,22	0,10	0,26	0,21	0,39
V165C	-0,44	-0,26	-0,06	-0,05	-0,06	-0,01	0,15	0,06	0,10	0,40	0,20	0,07	0,22	-0,18	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,33
V165D	-1,40	-0,28	0,02	-0,34	-0,32	-0,27	-0,33	-0,52	-0,42	-1,04	-0,95	-0,75	-1,23	-1,58	-1,08	0,04	0,11	0,11	0,12
V165E	-1,20	-0,27	-0,05	-0,27	-0,32	-0,27	-0,51	-0,57	-0,56	-1,06	-0,94	-0,81	-1,14	-0,84	-0,21	0,01	0,07	0,07	0,11
V165F	-1,37	-0,26	-0,02	-0,34	-0,32	-0,31	-0,32	-0,53	-0,53	-0,98	-0,85	-0,76	-1,33	-0,89	-0,28	0,08	0,27	0,20	0,29
V165G	-0,69	-0,23	-0,03	-0,14	-0,22	-0,24	0,03	-0,04	-0,22	0,09	-0,01	-0,08	-0,28	-0,94	-0,44	0,17	0,39	0,27	0,39
V165H	-1,30	-0,26	-0,04	-0,34	-0,32	-0,31	-0,24	-0,52	-0,53	-0,78	-0,74	-0,69	-0,78	-0,91	-0,32	0,15	0,41	0,29	0,43
V165I	-0,94	-0,25	0,01	-0,03	-0,10	-0,14	-0,08	-0,23	-0,35	0,16	0,15	0,20	0,05	-1,08	-0,64	0,10	0,26	0,20	0,26
V165K	-1,32	-0,26	-0,04	-0,34	-0,32	-0,31	-0,51	-0,56	-0,53	-1,08	-0,92	-0,75	-1,30	-0,83	-0,24	0,08	0,32	0,24	0,27
V165L	-1,22	-0,27	-0,05	-0,27	-0,30	-0,30	-0,15	-0,39	-0,49	-0,13	-0,28	-0,41	-0,65	-0,90	-0,34	0,07	0,19	0,18	0,21
V165M	-1,34	-0,27	-0,05	-0,33	-0,32	-0,31	-0,27	-0,51	-0,55	-0,77	-0,46	-0,66	-0,91	-0,97	-0,40	0,07	0,21	0,21	0,33
V165N	-1,36	-0,25	-0,02	-0,34	-0,32	-0,31	-0,28	-0,46	-0,54	-0,88	-0,80	-0,74	-0,91	-0,88	-0,29	0,14	0,32	0,27	0,29
V165P	-1,08	-0,24	-0,02	-0,30	-0,30	-0,29	-0,16	-0,29	-0,36	-0,67	-0,67	-0,62	-0,36	-0,84	-0,37	0,21	0,48	0,28	0,50
V165Q	-1,61	-0,35	-0,08	-0,38	-0,41	-0,30	-0,37	-0,43	-0,59	-0,76	-0,71	-0,63	-0,63	-0,38	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,11
V165R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,02	0,03	0,05
V165S	-0,63	-0,22	-0,02	0,00	-0,04	-0,08	-0,03	-0,15	-0,12	0,31	0,27	0,20	-0,09	-0,72	-0,27	0,09	0,24	0,20	0,33
V165T	-0,48	-0,22	-0,04	0,01	-0,02	-0,07	0,00	-0,05	-0,13	-0,08	0,34	0,06	-0,03	-0,79	-0,30	0,08	0,22	0,20	0,30
V165W	-1,33	-0,26	-0,03	-0,30	-0,31	-0,30	-0,36	-0,50	-0,48	-1,02	-0,92	-0,77	-1,33	-1,02	-0,49	0,06	0,25	0,17	0,23
V165Y	-1,35	-0,28	-0,05	-0,34	-0,32	-0,30	-0,48	-0,60	-0,56	-1,05	-0,95	-0,79	-1,33	-0,87	-0,25	0,05	0,23	0,17	0,23
N166A	-0,64	-0,28	-0,01	-0,04	-0,07	-0,08	-0,03	-0,13	-0,20	0,10	-0,06	0,00	0,08	-0,71	-0,30	0,07	0,17	0,18	0,30
N166C	-0,48	-0,11	0,02	-0,03	-0,04	-0,01	-0,12	-0,29	-0,17	-0,25	-0,17	-0,18	-0,16	0,07	0,02	0,08	0,22	0,19	0,30
N166D	-0,33	-0,13	0,00	-0,01	-0,03	0,00	0,04	-0,05	-0,01	-0,01	-0,05	-0,20	-1,18	-0,52	-0,21	0,32	0,54	0,21	0,90
N166E	-0,99	-0,35	-0,06	-0,08	-0,12	-0,06	0,04	-0,02	-0,10	0,19	0,05	0,05	0,30	-0,29	-0,15	0,00	0,00	0,00	0,55
N166F	-0,36	-0,19	-0,01	-0,03	-0,04	-0,03	-0,04	-0,16	-0,07	-0,01	-0,29	-0,14	-0,12	-0,29	-0,15	0,04	0,12	0,11	0,20
N166G	-1,08	-0,29	-0,01	-0,17	-0,24	-0,24	-0,19	-0,32	-0,32	-0,24	0,00	-0,12	-0,30	-0,86	-0,19	0,04	0,13	0,09	0,21
N166H	-0,09	-0,24	-0,02	0,03	0,04	0,04	0,04	-0,07	-0,09	0,21	-0,15	0,17	0,13	-0,13	-0,06	0,07	0,17	0,16	0,22
N166I	-0,93	-0,29	-0,02	-0,23	-0,25	-0,25	-0,08	-0,38	-0,41	-0,14	-0,18	-0,28	-0,07	-0,81	-0,32	0,09	0,25	0,21	0,27
N166K	0,01	-0,02	0,00	0,13	0,13	0,10	0,07	-0,33	0,10	1,22	0,97	0,78	0,16	0,06	0,16	0,09	0,29	0,21	0,26
N166L	-0,58	-0,23	-0,02	-0,07	-0,09	-0,08	-0,20	-0,31	-0,10	-0,22	-0,27	-0,25	0,04	-0,38	-0,17	0,04	0,13	0,11	0,19
N166M	0,01	-0,25	-0,05	0,03	0,01	0,04	0,07	0,01	0,03	0,65	0,35	0,26	0,57	-0,08	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,14
N166P	-1,24	-0,26	-0,01	-0,32	-0,33	-0,30	0,12	-0,24	-0,36	-0,22	-0,52	-0,55	-0,99	-0,96	-0,32	0,26	0,52	0,27	0,51
N166Q	-0,48	-0,26	-0,02	-0,06	-0,05	-0,02	0,01	-0,11	-0,08	-0,31	-0,27	-0,12	-0,35	-0,38	-0,14	0,05	0,18	0,16	0,26
N166R	-0,19	-0,07	0,01	0,04	-0,01	0,02	0,13	0,05	0,17	0,92	0,33	0,31	0,25	-0,23	-0,11	0,11	0,32	0,24	0,28
N166S	-0,79	-0,24	0,01	-0,08	-0,11	-0,11	-0,09	-0,18	-0,27	-0,15	-0,29	-0,13	-0,27	-0,65	-0,35	0,10	0,29	0,23	0,34
N166T	-0,50	-0,23	0,00	-0,09	-0,11	-0,11	-0,03	-0,15	-0,20	-0,20	-0,15	-0,02	-0,06	-0,14	-0,11	0,09	0,20	0,20	0,29
N166V	-0,69	-0,29	-0,02	-0,16	-0,20	-0,20	-0,10	-0,16	-0,26	0,20	-0,17	-0,05	-0,06	-0,60	-0,24	0,07	0,27	0,20	0,29
N166W	-0,34	-0,14	-0,02	-0,12	-0,09	-0,07	-0,13	-0,27	-0,16	-0,47	-0,14	-0,33	-0,14	-0,39	-0,10	0,04	0,11	0,10	0,17
N166Y	0,04	-0,28	-0,06	-0,02	-0,03	0,03	0,19	0,15	0,27	0,56	0,40	0,22	0,50	0,11	0,08	0,00	0,00	0,00	0,21
S167A	-0,44	-0,16	-0,02	0,00	0,01	0,03	0,16	0,12	-0,07	0,12	0,31	0,32	-0,05	-0,90	-0,44	0,05	0,12	0,12	0,18
S167C	-0,16	-0,09	0,06	0,10	0,10	0,03	0,10	0,15	0,07	0,09	0,20	0,14	-0,02	-0,66	-0,26	0,10	0,28	0,21	0,31
S167D	-0,57	-0,19	-0,02	-0,06	-0,03	-0,05	-0,07	0,07	-0,08	-0,10	-0,04	-0,08	-0,28	-0,82	-0,35	0,07	0,17	0,14	0,25
S167E	-0,38	-0,16	0,00	-0,03	-0,02	-0,04	-0,10	-0,02	-0,12	-0,20	-0,29	-0,16	-0,46	-0,67	-0,33	0,11	0,30	0,21	0,39
S167F	-0,48	-0,15	0,02	-0,10	-0,07	-0,09	0,04	0,04	-0,15	0,18	-0,15	0,04	-0,03	-0,88	-0,37	0,04	0,14	0,12	0,20
S167G	-0,49	-0,19	-0,01	-0,06	-0,04	-0,06	-0,04	-0,05	-0,19	-0,13	0,13	0,01	-0,07	-0,70	-0,09	0,06	0,17	0,14	0,21
S167H	-0,50	-0,15	-0,01	-0,02	-0,03	-0,05	-0,07	0,01	-0,06	0,16	-0,08	0,02	-0,14	-0,67	-0,14	0,06	0,16	0,13	0,20
S167I	-0,43	-0,17	-0,04	0,04	0,03	0,00	0,09	0,05	-0,01	0,38	0,28	0,18	0,15	-0,29	0,24	0,05	0,16	0,13	0,16
S167K	-0,47	-0,15	-0,02	-0,04	-0,06	-0,07	-0,15	-0,05	-0,14	-0,10	-0,06	0,04	-0,38	-0,84	-0,23	0,05	0,16	0,13	0,24
S167L	-0,48	-0,16	-0,02	-0,02	-0,03	-0,06	-0,04	-0,01	-0,06	-0,22	0,06	0,00	-0,05	-0,56	0,03	0,05	0,12	0,12	0,16
S167M	0,05	-0,25	-0,02	-0,09	-0,08	-0,08	0,09	0,01	0,00	0,02	-0,09	-0,10	-0,19	-0,07	-0,06	0,03	0,10	0,09	0,38
S167N	-0,44	-0,20	-0,01	0,01	-0,01	-0,04	0,03	-0,03	-0,13	0,28	0,09	0,00	-0,01	-0,72	-0,12	0,06	0,18	0,18	0,22
S167P	-0,55	-0,18	0,01	0,00	0,00	-0,01	0,13	0,17	0,01	0,37	0,05	0,05	-0,13	-0,86	-0,42	0,13	0,29	0,24	0,31
S167Q	-0,04	-0,41	-0,04	-0,13	-0,10	-0,06	0,21	0,13	0,06	-0,08	-0,33	-0,32	-0,19	0,04	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,15
S167R	-0,26	-0,12	0,01	0,07	0,06	0,00	-0,01	-0,02	-0,08	0,11	0,55	0,34	-0,34	-0,74	-0,13	0,05	0,15	0,13	0,21
S167T	-0,44	-0,16	-0,03	0,03	0,01	-0,01	0,07	0,07	-0,07	0,30	0,16	0,08	0,03	-0,80	-0,23	0,06	0,18	0,16	0,19
S167V	-0,70	-0,12	-0,06	-0,04	-0,05	0,02	0,03	-0,02	0,03	0,16	0,07	-0,02	0,42	-0,02	0,05	0,00	0,00	0,00	0,84
S167W	-0,49	-0,18	-0,06	-0,04	-0,05	0,00	0,17	0,06	0,04	0,49	0,25	0,15	0,18	-0,25	-0,14	0,00	0,00	0,00	0,29
S167Y	-0,20	-0,18	-0,01	0,04	0,04	0,03	0,22	0,26	-0,02	0,68	0,52	0,46	0,11	-0,82	-0,39	0,04	0,14	0,12	0,16
L168A	-1,12	-0,20	-0,01	-0,10	-0,16	-0,19	-0,01	-0,17	-0,27	-0,17	-0,09	-0,07	-0,51	-1,16	-0,45	0,05	0,17	0,15	0,21
L168C	-0,66	-0,07	0,14	-0,11	-0,07	-0,13	-0,08	-0,06	-0,19	0,09	-0,09	-0,10	-0,78	-0,89	-0,44	0,12	0,28	0,23	0,41
L168D	-1,22	-0,23	-0,01	-0,24	-0,28	-0,29	-0,08	-0,36	-0,38	-0,07	-0,48	-0,31	-0,79	-1,10	-0,36	0,08	0,26	0,20	0,34
L168E	-0,66	-0,16	-0,02	0,01	-0,02	-0,12	-0,05	0,05	-0,05	0,17	-0,05	-0,06	-0,33	-0,90	-0,26	0,09	0,22	0,20	0,23
L168F	-0,08	-0,11	0,06	0,03	0,04	0,02	0,03	0,03	-0,04	0,09	0,05	0,04	0,02	-0,20	-0,31	0,09	0,24	0,20	0,25
L168G	-1,12	-0,19	-0,01	-0,19	-0,20	-0,26	-0,01	-0,15	-0,30	0,19	-0,15	-0,06	-0,89	-1,28	-0,55	0,10	0,23	0,09	0,43
L168H	-0,59	-0,13	0,02	-0,05	-0,07	-0,07	-0,03	-0,12	-0,16	-0,09	-0,17	0,05	-0,56	-0,74	-0,28	0,05	0,09	0,13	0,26
L168I	-0,26	-0,09	-0,01	-0,01	-0,02	-0,06	0,03	-0,12	-0,11	-0,07	-0,08	-0,02	0,24	-0,11	-0,01	0,06	0,16	0,15	0,21
L168K	-1,12	-0,21	0,08	-0,07	-0,12	-0,17	-0,02	-0,23	-0,41	0,09	0,03	-0,01	-1,03	-1,19	-0,48	0,10	0,28	0,21	0,37
L168M	-0,35	-0,15	0,01	0,01	0,06	-0,02	0,08	0,00	-0,11	0,10	0,06	0,45	0,41	-0,84	-0,27	0,08	0,21	0,18	0,19
L168N	-1,15	-0,35	-0,06	-0,13	-0,17	-0,12	0,00	0,04	-0,19	0,14	-0,03	-0,12	-0,17	-0,47	-0,28	0,00	0,00	0,00	0,45
L168P	-1,11	-0,18	-0,01	-0,32	-0,31	-0,31	-0,11	-0,27	-0,42	-0,62	-0,70	-0,62	-1,20	-1,15	-0,45	0,23	0,49	0,20	0,68
L168Q	-0,94	-0,14	0,00	-0,05	-0,09	-0,18	0,04	-0,22	-0,11	0,26	0,23	0,14	-0,27	-0,61	-0,13	0,06	0,16	0,12	0,17
L168R	-1,15	-0,20	0,01	-0,07	-0,13	-0,21	0,05	-0,23	-0,42	0,30	0,21	0,09	-0,58	-1,14	-0,43	0,11	0,26	0,22	0,30
L168S	-1,26	-0,22	-0,03	-0,12	-0,17	-0,24	0,01	-0,19	-0,31	-0,02	-0,03	0,01	-0,83	-1,14	-0,41	0,08	0,19	0,17	0,21
L168T	-1,27	-0,35	-0,07	-0,06	-0,12	-0,06	0,00	-0,02	-0,24	0,62	0,32	0,13	0,10	-0,48	-0,29	0,00	0,00	0,00	0,31
L168V	-0,50	-0,19	0,01	-0,03	-0,03	-0,04	-0,04	-0,05	-0,16	0,16	0,07	0,11	-0,05	-0,62	-0,35	0,09	0,24	0,21	0,23
L168W	-0,21	-0,13	0,00	0,00	0,04	-0,03	0,09	0,05	-0,06	0,29	0,13	0,13	-0,01	-0,77	-0,47	0,07	0,21	0,18	0,23
L168Y	-0,05	-0,07	-0,03	0,00	0,07	0,05	-0,05	-0,11	-0,07	0,22	0,25	-0,04	0,32	0,16	0,12	0,07	0,19	0,17	0,23
I169A	-0,32	-0,14	0,01	-0,02	-0,05	-0,07	-0,04	-0,05	-0,01	-0,02	-0,09	-0,02	-1,13	-0,23	-0,09	0,21	0,57	0,35	0,52
I169C	-0,16	-0,01	0,02	0,02	0,03	0,00	0,00	0,04	0,03	0,11	0,16	0,13	-0,95	-0,18	-0,04	0,20	0,54	0,33	0,51
I169D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,07
I169E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,02
I169F	-1,35	-0,22	0,00	-0,34	-0,34	-0,30	-0,49	-0,54	-0,50	-0,96	-0,96	-0,86	-1,38	-1,04	-0,25	0,03	0,10	0,06	0,14
I169G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,00	0,07
I169H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,00	0,04
I169K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	-0,01	0,04

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
I169L	-0,24	-0,03	0,00	-0,05	-0,07	-0,08	-0,08	-0,10	-0,08	-0,19	-0,16	-0,09	-0,01	-0,12	-0,10	0,09	0,28	0,20	0,27
I169M	-0,18	0,16	0,06	-0,03	-0,10	-0,08	-0,01	-0,05	-0,06	0,03	-0,08	0,03	-0,46	-0,03	0,00	0,10	0,35	0,24	0,37
I169N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,03	0,00	0,06
I169P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,04
I169Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,01	0,06
I169R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	-0,01	0,04
I169S	-0,71	-0,16	-0,02	-0,15	-0,17	-0,20	-0,15	-0,14	-0,30	-0,32	-0,29	-0,29	0,03	-0,55	-0,19	0,06	0,18	0,11	0,21
I169T	-0,30	-0,02	0,04	-0,13	-0,15	-0,14	-0,19	-0,22	-0,16	-0,36	-0,26	-0,14	-1,10	-0,01	0,29	0,12	0,33	0,21	0,33
I169V	-0,75	-0,17	0,02	-0,14	-0,13	-0,06	-0,24	-0,20	-0,31	-0,20	-0,14	-0,13	0,20	0,35	-0,16	0,08	0,19	0,12	0,16
I169W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,00	0,05
I169Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,05	0,01	0,07
K170A	-0,10	-0,08	-0,01	0,04	0,04	0,00	-0,03	-0,01	0,03	-0,21	-0,13	0,05	-0,28	-0,21	-0,12	0,11	0,30	0,22	0,36
K170C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
K170D	-0,13	-0,04	-0,01	0,08	0,12	0,05	0,07	0,06	0,15	0,10	0,03	0,25	-1,35	-0,29	0,05	0,27	0,56	0,33	0,69
K170E	-0,17	-0,01	0,01	0,16	0,14	0,14	0,15	0,12	0,24	0,13	0,04	-0,02	-1,72	-0,65	0,17	0,39	0,39	0,26	0,93
K170F	-0,49	-0,14	0,00	-0,04	0,04	-0,03	-0,10	-0,08	-0,05	-0,18	-0,14	-0,02	0,06	-0,23	-0,08	0,06	0,21	0,15	0,23
K170G	-0,07	-0,35	-0,09	-0,02	-0,02	-0,03	0,12	0,00	0,05	0,26	0,14	0,10	-0,13	-0,14	-0,20	0,00	0,00	0,00	0,32
K170H	-0,21	-0,09	0,00	0,02	0,00	-0,01	-0,03	-0,08	0,01	-0,15	0,01	0,07	-0,08	-0,26	0,00	0,08	0,25	0,18	0,27
K170I	-0,41	-0,03	0,13	-0,09	-0,12	-0,13	-0,08	-0,08	-0,16	-0,27	-0,24	-0,14	-0,63	-0,49	-0,24	0,07	0,19	0,15	0,31
K170L	-0,31	-0,07	-0,01	0,00	0,02	-0,08	-0,10	-0,13	-0,09	-0,16	-0,09	-0,07	-0,21	-0,19	-0,01	0,05	0,14	0,11	0,21
K170M	-0,13	-0,11	0,02	0,08	0,08	0,02	-0,05	-0,07	0,06	-0,28	-0,07	0,08	0,39	-0,27	0,06	0,07	0,22	0,17	0,23
K170N	-0,02	-0,05	0,01	0,02	0,04	0,02	-0,01	-0,03	0,03	0,01	0,05	0,17	-0,02	-0,08	0,05	0,10	0,29	0,22	0,37
K170P	-0,78	-0,18	0,00	-0,09	-0,16	-0,22	0,01	-0,03	0,02	-0,11	-0,12	-0,08	-0,92	-0,85	-0,20	0,27	0,61	0,35	0,71
K170Q	0,15	-0,30	-0,04	-0,05	-0,02	-0,02	0,01	0,01	0,03	0,00	-0,01	-0,04	-0,02	0,01	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,45
K170R	-0,07	-0,09	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02	0,04	0,00	-0,01	0,00	0,25	0,01	-0,14	-0,03	0,09	0,24	0,18	0,28
K170S	-0,27	-0,14	0,00	0,06	0,07	-0,02	-0,05	-0,02	0,04	-0,02	-0,10	0,03	-0,16	-0,24	-0,14	0,13	0,36	0,26	0,36
K170T	-0,21	-0,11	0,01	0,03	0,00	-0,02	0,00	0,03	0,03	-0,09	0,01	0,16	-0,14	-0,26	-0,10	0,11	0,34	0,25	0,34
K170V	-0,15	-0,01	-0,01	0,00	0,01	0,00	-0,14	-0,03	0,00	-0,14	-0,03	-0,07	-0,06	0,02	0,17	0,06	0,17	0,13	0,23
K170W	-0,36	-0,19	0,00	0,03	0,08	-0,03	-0,07	-0,11	-0,13	-0,20	-0,18	-0,04	-0,18	-0,48	-0,25	0,05	0,13	0,10	0,20
K170Y	-0,15	-0,12	-0,02	0,07	0,07	0,03	0,02	-0,01	0,00	-0,11	-0,06	-0,17	-0,30	-0,13	-0,04	0,13	0,38	0,27	0,38
E171A	-0,33	-0,14	-0,01	-0,03	-0,05	-0,04	-0,07	-0,02	-0,09	0,12	0,09	0,08	0,01	-0,54	-0,14	0,06	0,16	0,12	0,27
E171C	-0,10	0,08	0,03	0,09	0,04	0,03	-0,08	0,09	0,02	-0,10	-0,01	-0,04	0,39	-0,06	0,15	0,09	0,22	0,16	0,29
E171D	-0,26	-0,05	0,03	-0,08	-0,05	-0,03	-0,05	0,02	-0,16	-0,11	0,00	0,00	-0,33	-0,32	-0,21	0,07	0,15	0,12	0,39
E171F	-0,20	-0,08	0,02	0,01	0,00	0,01	-0,01	0,00	0,01	0,18	0,03	-0,05	0,41	0,08	0,14	0,07	0,16	0,13	0,22
E171G	-0,58	-0,15	-0,01	0,02	-0,04	-0,03	-0,02	-0,08	-0,20	0,32	0,37	0,04	0,19	-0,50	-0,04	0,08	0,16	0,12	0,25
E171H	-0,43	-0,05	0,12	-0,04	-0,05	-0,04	0,07	-0,08	-0,13	0,19	-0,05	-0,04	0,08	-0,38	-0,26	0,07	0,20	0,15	0,28
E171I	-0,23	-0,01	0,01	0,03	-0,01	0,01	0,00	-0,02	0,00	0,41	0,22	-0,21	0,58	-0,05	0,15	0,08	0,16	0,14	0,22
E171K	-0,61	-0,14	0,00	0,08	0,00	-0,01	-0,15	-0,17	-0,21	0,40	0,31	0,16	0,33	-0,42	0,05	0,08	0,23	0,16	0,23
E171L	-0,44	-0,12	0,01	0,01	-0,05	-0,04	0,00	-0,06	-0,10	-0,01	-0,08	-0,08	0,19	-0,39	-0,11	0,06	0,14	0,13	0,24
E171M	-0,14	-0,10	-0,02	0,06	0,00	-0,04	0,08	0,08	-0,02	0,11	0,29	0,13	0,36	-0,22	-0,09	0,06	0,17	0,12	0,23
E171N	-0,57	-0,13	0,00	0,00	-0,01	-0,03	-0,06	-0,02	-0,21	0,23	0,15	0,07	0,04	-0,38	-0,05	0,08	0,19	0,15	0,27
E171P	-0,88	-0,17	-0,01	-0,12	-0,15	-0,15	-0,07	-0,10	-0,20	-0,13	-0,07	-0,11	-0,28	-0,60	-0,16	0,17	0,45	0,30	0,55
E171Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,06
E171R	-0,62	-0,12	-0,02	0,01	-0,04	-0,05	-0,10	-0,12	-0,25	-0,03	0,08	-0,14	-0,26	-0,57	-0,05	0,06	0,19	0,14	0,29
E171S	-0,25	-0,10	0,00	0,04	-0,04	0,02	0,08	0,04	-0,09	0,24	0,21	0,09	0,21	-0,42	-0,08	0,07	0,18	0,15	0,27
E171T	-0,46	-0,11	0,01	-0,07	-0,06	-0,03	-0,04	0,01	-0,11	-0,01	0,08	0,00	-0,10	-0,54	-0,18	0,07	0,14	0,13	0,27
E171V	-0,35	-0,13	0,00	-0,02	-0,03	-0,02	-0,05	-0,04	-0,03	-0,08	0,22	-0,12	0,01	-0,35	-0,01	0,06	0,17	0,14	0,25
E171W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
E171Y	-0,26	-0,10	-0,01	0,01	-0,02	0,00	0,01	-0,05	-0,02	0,09	0,21	0,17	0,26	-0,06	-0,01	0,07	0,21	0,15	0,28
G172A	-0,04	-0,12	-0,02	-0,04	-0,01	-0,01	0,11	0,11	0,07	0,26	0,08	0,02	-0,03	-0,12	-0,08	0,07	0,21	0,16	0,30
G172C	-0,95	-0,22	-0,02	-0,16	-0,20	-0,23	0,10	-0,09	-0,36	-0,12	-0,33	-0,16	-0,50	-0,72	-0,28	0,08	0,25	0,22	0,30
G172D	-1,23	-0,23	-0,01	-0,30	-0,31	-0,29	-0,42	-0,54	-0,53	-0,98	-1,09	-0,80	-1,10	-0,61	-0,10	0,06	0,16	0,11	0,21
G172E	-1,26	-0,23	-0,01	-0,29	-0,30	-0,28	-0,32	-0,43	-0,46	-0,92	-1,06	-0,89	-1,28	-0,73	-0,28	0,14	0,47	0,32	0,41
G172F	-1,00	-0,35	-0,03	-0,34	-0,34	-0,27	-0,06	-0,12	-0,44	0,04	0,01	-0,08	-1,04	-0,38	-0,21	0,00	0,00	0,00	0,32
G172H	-1,23	-0,21	-0,03	-0,26	-0,30	-0,29	-0,02	-0,23	-0,42	-0,14	-0,24	-0,49	-1,20	-0,73	-0,23	0,14	0,39	0,28	0,37
G172I	-1,28	-0,27	-0,03	-0,34	-0,31	-0,29	-0,12	-0,46	-0,53	-0,80	-1,09	-0,86	-1,38	-0,78	-0,24	0,05	0,18	0,10	0,25
G172K	-1,27	-0,24	-0,03	-0,34	-0,31	-0,29	-0,40	-0,53	-0,53	-0,94	-1,04	-0,91	-1,38	-0,78	-0,23	0,03	0,12	0,06	0,39
G172L	-1,22	-0,21	-0,02	-0,34	-0,31	-0,29	-0,32	-0,46	-0,51	-0,98	-1,12	-0,87	-1,33	-0,80	-0,28	0,02	0,07	0,04	0,18
G172M	-1,19	-0,25	-0,04	-0,32	-0,31	-0,29	0,01	-0,27	-0,53	-0,36	-0,58	-0,54	-1,14	-0,76	-0,32	0,05	0,10	0,08	0,20
G172N	-1,20	-0,25	-0,03	-0,29	-0,30	-0,29	-0,12	-0,31	-0,47	-0,31	-0,51	-0,65	-1,25	-0,77	-0,24	0,09	0,24	0,15	0,30
G172P	-1,25	-0,25	-0,02	-0,32	-0,31	-0,28	-0,31	-0,48	-0,53	-0,97	-1,14	-0,83	-1,01	-0,75	-0,31	0,07	0,21	0,15	0,25
G172Q	-1,25	-0,22	-0,03	-0,32	-0,31	-0,30	-0,17	-0,45	-0,50	-0,91	-1,06	-0,83	-1,34	-0,74	-0,21	0,05	0,20	0,14	0,30
G172R	-1,28	-0,24	-0,03	-0,33	-0,31	-0,29	-0,28	-0,52	-0,51	-0,87	-1,05	-0,87	-1,40	-0,81	-0,35	0,04	0,13	0,07	0,57
G172S	-0,26	-0,15	-0,01	-0,01	-0,03	-0,03	0,12	0,10	-0,06	0,12	-0,01	-0,12	-0,06	-0,47	-0,12	0,08	0,19	0,15	0,31
G172T	-0,91	-0,21	-0,02	-0,04	-0,12	-0,16	0,15	0,03	-0,27	0,07	0,22	-0,31	-0,26	-0,77	-0,36	0,08	0,21	0,17	0,24
G172V	-1,19	-0,24	-0,02	-0,33	-0,31	-0,29	-0,01	-0,36	-0,46	-0,16	-0,58	-0,67	-1,28	-0,81	-0,36	0,07	0,22	0,17	0,29
G172W	-1,25	-0,24	-0,02	-0,32	-0,31	-0,29	-0,27	-0,55	-0,53	-0,93	-1,11	-0,86	-1,34	-0,76	-0,20	0,04	0,15	0,09	0,25
G172Y	-1,25	-0,25	-0,04	-0,29	-0,29	-0,29	-0,03	-0,26	-0,47	-0,30	-0,54	-0,47	-1,13	-0,76	-0,25	0,06	0,16	0,11	0,22
L173A	-0,77	-0,20	-0,03	-0,25	-0,29	-0,27	-0,12	-0,18	-0,28	-0,74	-0,67	-0,63	-0,30	-0,50	-0,18	0,04	0,11	0,09	0,21
L173C	-0,16	-0,07	0,01	-0,03	-0,05	-0,02	0,00	0,00	0,00	-0,07	0,14	-0,09	0,19	0,12	-0,07	0,11	0,37	0,15	0,38
L173D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
L173E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,04
L173F	-0,24	-0,18	-0,02	-0,03	-0,04	-0,02	0,05	0,09	-0,02	-0,26	0,08	-0,01	0,20	-0,28	-0,18	0,10	0,33	0,15	0,36
L173G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,07
L173H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,01	0,06
L173I	-0,51	-0,22	-0,03	0,02	0,02	-0,01	0,04	0,05	-0,04	0,20	0,38	0,27	0,36	-0,40	-0,17	0,12	0,40	0,15	0,35
L173K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00
L173M	-0,41	-0,20	0,09	0,02	-0,03	-0,03	0,20	0,16	0,01	-0,22	-0,04	0,01	-0,01	-0,29	-0,15	0,17	0,58	0,12	0,49
L173N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,01	0,06
L173P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	-0,01	0,00	0,04
L173Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,01
L173R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,04
L173S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,03	0,03	0,08
L173T	-1,02	-0,22	-0,02	-0,28	-0,29	-0,27	-0,11	-0,24	-0,43	-0,87	-0,93	-0,80	-0,46	-0,56	-0,32	0,04	0,17	0,11	0,23
L173V	-0,45	-0,20	-0,01	-0,03	-0,07	-0,06	-0,08	-0,08	-0,06	-0,33	0,03	-0,02	-0,35	-0,21	-0,15	0,21	0,60	0,10	0,60
L173W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,02	0,08
L173Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,01	0,02	0,08
N174A	-0,38	-0,16	-0,03	0,05	-0,04	0,00	0,11	0,03	0,02	0,20	0,13	0,00	0,33	-0,38	-0,18	0,08	0,22	0,13	0,26
N174C	0,09	-0,02	-0,01	0,14	0,00	0,04	-0,03	0,07	0,04	0,05	0,15	0,10	0,36	0,25	0,10	0,09	0,23	0,13	0,27
N174D	-0,57	-0,14	-0,01	-0,10	-0,12	-0,11	0,08	-0,16	-0,23	-0,09	-0,13	-0,29	-0,72	-0,33	-0,24	0,09	0,30	0,14	0,30
N174E	-0,19	0,03	0,04	0,08	0,06	0,03	0,11	0,14	0,00	0,08	0,09	0,31	0,03	0,15	0,03	0,15	0,45	0,16	0,44
N174F	-0,96	-0,12	0,03	-0,15	-0,18	-0,18	-0,03	-0,11	-0,18	-0,08	-0,07	0,05	-0,53	-0,60	-0,19	0,07	0,28	0,10	0,31
N174G	-0,71	-0,13	-0,03	-0,03	-0,07	-0,13	0,12	0,00	-0,14	-0,24	-0,17	-0,07	-0,19	-0,56	-0,29	0,10	0,32	0,00	0,37
N174H	-0,74	-0,09	0,03	-0,07	-0,14	-0,18	0,05	-0,09	-0,09	-0,24	-0,26	-0,08	-0,78	-0,57	-0,29	0,23	0,46	0,11	0,62
N174I	-0,07	-0,10	-0,01	0,07	0,03	0,03	0,01	-0,01	0,06	-0,20	0,09	0,05	0,46	0,15	-0,06	0,10	0,31	0,15	0,30
N174K	-0,09	-0,11	0,00	0,03	0,01	0,01	0,11	0,12	0,02	-0,06	0,22	-0,24	0,01	-0,35	-0,29	0,11	0,30	0,14	0,39
N174L	0,05	0,04	0,00	0,01	0,00	-0,01	0,02	0,04	-0,07	-0,12	0,02	-0,01	-0,11	0,01	0,02	0,07	0,25	0,14	0,37
N174M	-0,07	0,09	0,08	-0,02	0,00	-0,05	-0,09	-0,06	-0,08	-0,33	0,03	-0,22	-0,20	-0,05	-0,01	0,07	0,22	0,12	0,34
N174P	-1,16	-0,17	-0,01	-0,29	-0,30	-0,29	-0,11	-0,35	-0,50	-0,81	-0,97	-0,85	-1,16	-0,61	-0,38	0,13	0,49	0,13	0,40
N174Q	-0,12	-0,04	0,01	-0,03	-0,02	-0,04	-0,01	-0,18	0,04	-0,25	0,00	-0,21	-0,07	-0,05	-0,09	0,07	0,21	0,13	0,32

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
N174R	-0,10	-0,09	0,00	0,04	-0,03	0,02	0,12	0,05	-0,03	0,02	0,11	-0,04	0,16	-0,16	-0,13	0,09	0,27	0,14	0,31
N174S	-0,16	-0,09	-0,01	0,02	-0,02	-0,01	0,01	0,00	0,01	-0,10	0,07	-0,19	-0,11	0,00	-0,20	0,09	0,25	0,13	0,36
N174T	0,09	0,02	0,02	0,03	0,00	0,01	0,07	0,10	0,04	0,02	0,10	-0,03	0,22	0,08	0,03	0,09	0,27	0,14	0,32
N174V	-0,57	-0,11	-0,01	-0,05	-0,04	-0,07	0,00	-0,07	-0,07	-0,02	-0,16	-0,07	-0,07	-0,42	-0,22	0,06	0,25	0,12	0,34
N174W	-0,40	-0,02	0,01	-0,09	-0,11	-0,12	-0,20	-0,09	-0,16	-0,57	-0,39	-0,36	-0,38	-0,33	-0,30	0,05	0,19	0,12	0,23
N174Y	-0,28	-0,11	0,00	-0,01	-0,01	-0,04	0,00	-0,09	-0,04	-0,13	0,07	-0,15	-0,03	-0,36	-0,27	0,09	0,27	0,14	0,34
G175A	-0,90	-0,15	-0,01	-0,10	-0,13	-0,18	0,02	-0,14	-0,24	-0,26	-0,03	-0,20	-0,40	-0,66	-0,26	0,08	0,20	0,12	0,33
G175C	-0,51	-0,12	-0,01	0,10	0,17	-0,01	0,17	0,11	0,05	-0,06	0,30	0,18	0,19	-0,46	-0,12	0,11	0,30	0,12	0,29
G175D	-0,58	-0,13	0,00	-0,02	-0,05	-0,08	-0,01	-0,03	-0,03	-0,40	0,05	-0,01	-0,23	-0,59	-0,24	0,11	0,33	0,13	0,44
G175E	-0,84	-0,14	-0,02	-0,04	-0,09	-0,15	-0,07	0,00	-0,14	-0,48	-0,10	-0,03	-0,16	-0,54	-0,20	0,12	0,32	0,12	0,40
G175F	-0,55	-0,13	-0,02	0,02	-0,02	-0,07	0,02	0,03	-0,07	-0,23	0,16	0,02	0,14	-0,51	-0,21	0,11	0,32	0,12	0,32
G175H	-0,84	-0,16	-0,02	-0,03	-0,09	-0,13	0,03	-0,05	-0,15	-0,09	0,10	-0,01	-0,14	-0,62	-0,26	0,11	0,18	0,12	0,34
G175I	-1,10	-0,16	-0,01	-0,28	-0,29	-0,27	0,04	-0,21	-0,38	-0,50	-0,32	-0,46	-0,75	-0,64	-0,19	0,09	0,26	0,12	0,33
G175K	-0,91	-0,35	-0,04	-0,10	-0,12	-0,12	0,01	0,02	-0,26	0,53	0,56	0,37	-0,80	-0,38	-0,20	0,00	0,00	0,00	0,37
G175L	-1,03	-0,15	-0,02	-0,13	-0,19	-0,22	0,05	-0,07	-0,27	-0,42	-0,23	-0,13	-0,32	-0,59	-0,11	0,08	0,22	0,13	0,30
G175M	-0,87	-0,16	0,11	-0,04	-0,10	-0,16	0,11	0,02	-0,15	-0,04	0,30	-0,18	0,15	-0,53	-0,27	0,13	0,40	0,13	0,33
G175N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,05
G175P	-1,13	-0,16	-0,01	-0,26	-0,28	-0,27	0,00	-0,18	-0,37	-0,49	-0,30	-0,47	-0,90	-0,63	-0,28	0,11	0,29	0,12	0,47
G175Q	-0,96	-0,14	0,00	-0,07	-0,13	-0,18	-0,04	-0,01	-0,20	-0,19	0,26	0,13	-0,27	-0,62	-0,20	0,12	0,34	0,12	0,42
G175R	-1,00	-0,15	-0,01	-0,01	-0,08	-0,12	0,03	-0,03	-0,22	0,01	0,37	0,12	-0,45	-0,62	-0,20	0,10	0,28	0,12	0,33
G175S	-0,85	-0,15	0,00	-0,08	-0,09	-0,12	0,10	0,01	-0,15	-0,25	0,20	0,01	-0,14	-0,57	-0,18	0,10	0,27	0,13	0,32
G175T	-1,07	-0,15	-0,02	-0,18	-0,24	-0,27	0,05	-0,10	-0,34	-0,41	-0,07	-0,27	-0,42	-0,62	-0,25	0,09	0,24	0,12	0,28
G175V	-1,09	-0,15	0,01	-0,27	-0,28	-0,26	-0,10	-0,19	-0,40	-0,48	-0,45	-0,39	-0,69	-0,64	-0,21	0,08	0,22	0,12	0,32
G175W	-0,68	-0,45	-0,04	-0,15	-0,17	-0,20	0,02	-0,07	-0,19	0,10	0,22	0,05	-0,38	-0,28	-0,22	0,00	0,00	0,00	0,35
G175Y	-0,22	-0,09	-0,01	0,04	0,01	0,01	0,05	0,07	0,06	-0,12	0,15	0,17	0,09	-0,32	-0,08	0,12	0,35	0,13	0,37
G176A	0,00	-0,04	0,01	0,07	0,05	0,04	0,00	0,13	0,00	0,14	0,09	-0,02	0,30	-0,28	-0,39	0,14	0,33	0,26	0,34
G176C	0,47	-0,20	-0,10	0,11	0,14	0,10	0,04	0,13	0,19	0,73	0,57	0,25	0,08	-0,02	-0,12	0,00	0,00	0,00	0,23
G176D	-0,36	-0,09	0,01	0,05	-0,02	-0,09	0,07	0,04	-0,12	-0,21	-0,28	-0,28	0,38	-0,64	-0,23	0,12	0,31	0,29	0,33
G176E	-0,15	-0,08	0,01	-0,03	-0,06	-0,09	-0,12	-0,03	-0,08	-0,22	-0,26	-0,25	0,20	-0,36	-0,24	0,11	0,33	0,27	0,31
G176F	0,14	0,08	0,02	0,12	0,06	0,04	-0,01	0,22	-0,11	-0,05	0,58	0,11	0,14	0,13	-0,11	0,08	0,27	0,22	0,28
G176H	0,12	0,02	0,01	0,06	0,04	0,02	0,16	0,16	0,06	0,43	0,38	-0,03	0,44	0,07	-0,08	0,10	0,29	0,25	0,28
G176I	-0,71	-0,09	0,00	-0,08	-0,17	-0,21	-0,08	-0,09	-0,32	-0,05	-0,08	-0,10	0,18	-0,71	-0,31	0,09	0,30	0,26	0,30
G176K	0,28	-0,25	-0,02	-0,05	-0,02	0,03	0,06	0,15	0,08	0,57	0,64	0,48	-0,09	-0,09	-0,08	0,00	0,00	0,00	0,36
G176L	0,05	0,05	0,01	0,03	-0,01	-0,02	-0,08	0,01	0,02	-0,04	-0,15	-0,17	0,35	0,24	0,17	0,11	0,32	0,26	0,34
G176M	0,14	0,05	0,02	0,03	0,00	0,00	-0,06	0,15	0,03	-0,10	0,03	-0,12	0,42	0,21	0,08	0,10	0,27	0,26	0,34
G176N	-0,01	-0,08	0,01	0,08	0,00	0,02	0,00	0,14	-0,04	0,10	0,30	0,09	0,69	-0,31	-0,22	0,10	0,29	0,24	0,26
G176P	-0,80	-0,12	-0,01	-0,27	-0,30	-0,29	-0,31	-0,40	-0,53	0,09	-0,30	-0,55	-0,91	-0,85	-0,39	0,10	0,37	0,29	0,37
G176Q	-0,03	-0,02	0,00	0,05	-0,01	-0,03	0,02	0,06	0,00	0,26	-0,12	-0,03	0,07	-0,19	-0,19	0,10	0,31	0,27	0,34
G176R	-0,27	-0,05	0,01	-0,03	-0,04	-0,02	-0,08	-0,08	-0,17	-0,08	-0,19	-0,06	0,15	-0,48	-0,29	0,11	0,29	0,24	0,30
G176S	-0,17	-0,06	0,01	0,03	-0,02	-0,02	0,10	0,09	0,00	0,03	-0,11	0,01	0,06	-0,62	-0,45	0,12	0,35	0,28	0,36
G176T	-0,59	-0,09	0,00	-0,05	-0,10	-0,11	-0,14	-0,14	-0,22	-0,05	-0,18	-0,25	-0,13	-0,93	-0,49	0,14	0,41	0,31	0,48
G176V	-0,66	-0,10	0,00	-0,05	-0,14	-0,18	-0,06	-0,02	-0,25	-0,10	-0,01	-0,22	-0,08	-0,85	-0,40	0,10	0,31	0,26	0,36
G176W	0,01	-0,01	0,01	0,05	0,02	0,03	-0,12	0,01	-0,02	0,16	0,11	-0,01	0,28	-0,09	-0,20	0,10	0,30	0,24	0,38
G176Y	0,08	0,03	0,00	0,06	0,04	0,03	0,01	0,07	0,01	0,14	-0,01	-0,09	0,14	0,03	-0,05	0,16	0,40	0,33	0,40
G177A	-1,14	-0,15	-0,01	-0,31	-0,35	-0,34	-0,07	-0,35	-0,69	-0,06	0,01	-0,43	-0,73	-0,89	-0,53	0,12	0,30	0,25	0,31
G177C	-0,93	-0,33	-0,03	-0,32	-0,34	-0,26	-0,07	-0,19	-0,46	0,15	0,09	-0,08	-0,92	-0,36	-0,17	0,00	0,00	0,00	0,39
G177D	-1,02	-0,36	-0,03	-0,36	-0,35	-0,27	0,00	-0,14	-0,48	0,09	0,15	-0,15	-1,08	-0,38	-0,20	0,00	0,00	0,00	0,40
G177E	-1,20	-0,15	-0,03	-0,35	-0,37	-0,35	0,00	-0,38	-0,83	-0,46	-0,41	-0,70	-0,81	-0,89	-0,46	0,13	0,43	0,32	0,36
G177F	-1,21	-0,15	-0,01	-0,35	-0,37	-0,35	0,04	-0,35	-0,71	0,43	-0,44	-0,51	-0,75	-1,02	-0,62	0,12	0,31	0,29	0,26
G177H	-0,82	-0,42	-0,03	-0,34	-0,34	-0,31	-0,04	-0,17	-0,40	-0,25	-0,37	-0,43	-0,69	-0,33	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,66
G177I	0,18	-0,24	-0,04	-0,09	-0,08	-0,05	0,08	-0,02	0,04	0,02	0,16	0,13	-0,08	0,00	-0,06	0,00	0,00	0,00	0,42
G177K	-1,09	-0,10	-0,02	-0,32	-0,36	-0,33	0,01	-0,37	-0,74	0,32	0,26	-0,26	-0,82	-0,82	-0,39	0,15	0,36	0,30	0,33
G177L	-1,08	-0,12	-0,02	-0,34	-0,36	-0,34	0,03	-0,33	-0,70	0,02	-0,20	-0,44	-0,84	-0,90	-0,50	0,12	0,38	0,29	0,31
G177M	-1,25	-0,16	-0,02	-0,33	-0,37	-0,35	0,10	-0,30	-0,86	0,11	0,02	-0,42	-0,76	-0,84	-0,50	0,10	0,32	0,27	0,23
G177N	-1,10	-0,09	-0,02	-0,31	-0,35	-0,35	0,08	-0,29	-0,63	-0,41	-0,51	-0,09	-0,74	-0,93	-0,56	0,10	0,37	0,27	0,34
G177P	-1,19	-0,14	0,01	-0,33	-0,35	-0,34	0,05	-0,26	-0,82	0,06	-0,48	-0,70	-0,79	-0,84	-0,45	0,11	0,45	0,33	0,40
G177Q	-1,23	-0,45	-0,11	-0,42	-0,47	-0,36	0,07	-0,16	-0,49	0,44	0,30	-0,02	-0,97	-0,43	-0,33	0,00	0,00	0,00	0,19
G177R	-1,09	-0,10	-0,02	-0,31	-0,34	-0,33	-0,03	-0,34	-0,69	0,07	-0,27	-0,29	-0,90	-0,96	-0,58	0,11	0,36	0,28	0,32
G177S	-0,97	-0,14	-0,03	0,00	-0,10	-0,17	0,17	-0,06	-0,19	0,57	0,36	0,38	0,18	-0,76	-0,36	0,15	0,42	0,34	0,32
G177T	-1,07	-0,12	-0,02	-0,33	-0,33	-0,34	0,09	-0,31	-0,65	-0,06	-0,21	-0,61	-0,78	-0,92	-0,48	0,13	0,36	0,29	0,35
G177V	-1,16	-0,14	-0,01	-0,33	-0,36	-0,35	-0,07	-0,23	-0,68	0,08	-0,39	-0,64	-0,80	-0,89	-0,48	0,13	0,39	0,30	0,36
G177W	-1,18	-0,15	-0,02	-0,33	-0,36	-0,34	-0,16	-0,44	-0,66	-0,14	-0,44	-0,61	-0,74	-0,84	-0,39	0,11	0,30	0,25	0,29
G177Y	-1,13	-0,16	-0,02	-0,35	-0,36	-0,35	-0,21	-0,53	-0,77	0,81	0,03	-0,20	-0,74	-1,04	-0,59	0,16	0,36	0,33	0,25
Q178A	0,06	-0,03	0,00	0,08	0,08	0,08	-0,01	0,08	0,04	0,27	0,24	0,12	0,26	0,12	0,01	0,09	0,29	0,12	0,30
Q178C	0,19	0,27	0,01	0,02	0,05	0,05	0,04	0,02	0,03	-0,06	-0,04	-0,02	-0,14	0,24	0,36	0,11	0,29	0,12	0,34
Q178D	-0,33	-0,12	0,06	-0,06	-0,08	-0,08	-0,06	-0,08	-0,02	-0,20	-0,41	-0,19	-0,31	-0,31	-0,24	0,12	0,37	0,13	0,43
Q178E	0,03	-0,01	0,00	-0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,05	-0,12	-0,22	-0,14	-0,25	0,01	-0,05	0,10	0,27	0,12	0,40
Q178F	-0,11	-0,01	0,00	-0,01	0,00	0,03	-0,01	0,10	-0,01	0,07	0,07	0,16	0,17	-0,02	0,02	0,08	0,18	0,11	0,24
Q178G	-0,44	-0,09	-0,01	-0,04	-0,09	-0,08	-0,03	-0,14	-0,08	-0,08	-0,20	-0,12	-0,29	-0,50	-0,27	0,08	0,25	0,06	0,32
Q178H	0,18	-0,28	-0,03	-0,08	-0,06	-0,01	0,03	-0,03	0,01	0,40	0,39	0,21	-0,29	-0,25	-0,13	0,00	0,00	0,00	0,39
Q178I	-0,23	-0,07	-0,01	-0,04	-0,08	-0,03	-0,02	-0,09	-0,11	-0,09	-0,42	-0,12	-0,28	-0,34	-0,11	0,08	0,17	0,11	0,32
Q178K	-0,29	-0,06	-0,01	-0,02	0,01	-0,02	0,00	-0,10	-0,10	-0,03	0,04	-0,01	-0,08	-0,35	-0,05	0,07	0,16	0,11	0,27
Q178L	-0,07	0,14	0,00	-0,05	-0,02	-0,02	-0,01	-0,07	-0,02	-0,05	-0,25	-0,03	-0,16	-0,01	0,04	0,08	0,17	0,11	0,32
Q178M	0,08	0,23	0,03	-0,01	-0,02	-0,02	0,02	-0,09	0,05	0,06	-0,20	-0,01	0,01	0,24	0,25	0,07	0,22	0,11	0,29
Q178N	-0,62	-0,12	0,02	-0,05	-0,04	-0,04	0,05	-0,09	-0,19	-0,06	-0,37	-0,07	-0,18	-0,55	-0,09	0,08	0,20	0,12	0,31
Q178P	-1,14	-0,13	-0,02	-0,35	-0,34	-0,30	0,03	-0,30	-0,45	-0,48	-0,67	-0,60	-1,19	-0,71	-0,30	0,09	0,29	0,12	0,32
Q178R	-0,21	-0,05	-0,01	-0,02	-0,02	-0,01	0,01	-0,04	-0,06	0,08	0,35	0,11	-0,07	-0,28	-0,19	0,09	0,24	0,12	0,29
Q178S	-0,13	-0,09	0,00	-0,02	0,00	-0,01	0,08	0,03	0,02	-0,04	-0,05	0,04	0,04	-0,40	-0,23	0,09	0,20	0,11	0,27
Q178T	-0,21	-0,03	0,01	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,16	-0,16	0,09	0,14	-0,13	-0,02	0,10	0,22	0,14	0,30
Q178V	-0,37	-0,08	-0,02	-0,03	-0,02	-0,05	0,00	0,03	-0,04	-0,05	-0,05	-0,06	0,06	-0,37	-0,13	0,09	0,22	0,12	0,32
Q178W	0,25	0,59	0,03	0,00	-0,01	0,01	0,03	0,04	0,04	0,06	0,05	0,04	-0,20	0,25	0,39	0,09	0,31	0,12	0,38
Q178Y	0,08	0,06	0,11	-0,05	-0,06	-0,06	-0,01	-0,13	-0,02	-0,13	-0,24	-0,15	-0,18	-0,13	-0,11	0,08	0,21	0,10	0,31
N179A	-0,98	-0,35	-0,03	-0,15	-0,24	-0,24	0,02	0,03	-0,34	0,45	0,44	0,23	-0,71	-0,41	-0,23	0,00	0,00	0,00	0,37
N179C	-0,13	-0,09	0,01	-0,02	-0,07	-0,04	0,29	0,02	-0,07	0,26	-0,26	-0,07	-0,22	-0,35	-0,03	0,11	0,27	0,24	0,34
N179D	-1,30	-0,34	-0,03	-0,20	-0,29	-0,31	0,03	-0,10	-0,30	0,38	0,08	-0,11	-0,48	-0,86	-0,32	0,13	0,37	0,30	0,34
N179E	-1,26	-0,35	-0,02	-0,18	-0,30	-0,31	0,06	-0,04	-0,30	0,65	0,49	-0,05	-0,95	-0,89	-0,33	0,26	0,49	0,37	0,62
N179F	-1,03	-0,32	-0,02	-0,01	-0,14	-0,16	0,15	0,10	-0,15	0,66	0,33	0,37	-0,24	-0,86	-0,32	0,07	0,14	0,14	0,18
N179G	-1,21	-0,34	-0,01	-0,09	-0,20	-0,25	0,01	-0,05	-0,33	0,39	0,08	0,32	-0,49	-0,90	-0,33	0,11	0,25	0,12	0,34
N179H	-1,21	-0,30	-0,01	-0,20	-0,20	-0,24	-0,02	-0,02	-0,32	0,56	0,47	0,40	-0,47	-0,90	-0,32	0,13	0,32	0,24	0,34
N179I	-1,21	-0,34	-0,03	-0,11	-0,19	-0,24	0,03	-0,03	-0,32	0,26	0,06	0,03	-0,54	-0,90	-0,33	0,11	0,28	0,24	0,33
N179K	-1,17	-0,34	-0,01	-0,31	-0,35	-0,30	-0,02	-0,25	-0,35	0,30	0,29	0,30	-1,17	-0,93	-0,34	0,07	0,21	0,17	0,29
N179L	-1,29	-0,34	-0,02	-0,18	-0,26	-0,28	0,07	-0,02	-0,38	0,40	0,08	-0,13	-0,82	-0,86	-0,30	0,09	0,34	0,28	0,33
N179M	-0,91	-0,36	-0,03	-0,14	-0,18	-0,18	0,00	-0,01	-0,24	0,23	0,22	0,06	-0,73	-0,45	-0,24	0,00	0,00	0,00	0,44
N179P	-1,30	-0,35	-0,03	-0,25	-0,32	-0,31	0,05	-0,12	-0,34	0,31	0,19	-0,03	-0,98	-0,90	-0,32	0,11	0,26	0,22	0,32
N179Q	-1,13	-0,31	-0,02	-0,11	-0,17	-0,22	0,06	-0,11	-0,29	0,04	0,02	-0,04	-0,33	-0,89	-0,33	0,09	0,24	0,18	0,35
N179R	-1,29	-0,35	-0,02	-0,21	-0,34	-0,30	0,04	-0,16	-0,36	0,72	0,53	0,34	-0,91	-0,87	-0,31	0,09	0,30	0,24	0,28
N179S	-1,03	-0,32	0,03	-0,01	-0,09	-0,15	0,16	-0,03	-0,21	0,35	0,05	-0,14	-0,15	-0,83	-0,30	0,11	0,27	0,21	0,30
N179T	-1,12	-0,35	-0,03	-0,05	-0,15	-0,23	0,08	-0,06	-0,26	0,15	-0,02	-0,08	-0,40	-0,90	-0,33	0,12	0,30	0,26	0,37
N179V	-1,30	-0,37	-0,03	-0,10	-0,19	-0,24	0,00	-0,18	-0,30	0,36	-0,01	0,07	-0,45	-0,90	-0,33	0,13	0,32	0,28	0,34
N179W	-1,15	-0,34	0,01	-0,18	-0,26	-0,31	0,04	-0,07	-0,29	-0,04	-0,43	-0,06	-0,90	-0,87	-0,31	0,04	0,14	0,13	0,33

Variant	SDS1	SDS2	SDS3	CTA1	CTA2	CTA3	Tw1	Tw2	Tw3	SB1	SB2	SB3	T5	T15	T30	pNPB	pNPP	pNPS	Act
N179Y	-1,14	-0,36	0,01	-0,08	-0,16	-0,21	0,12	0,06	-0,25	-0,04	-0,19	-0,21	-0,74	-0,92	-0,37	0,07	0,15	0,10	0,25
T180A	-0,14	-0,12	-0,01	-0,01	-0,03	-0,02	0,04	-0,10	-0,09	-0,01	-0,09	0,01	0,22	-0,12	-0,08	0,10	0,28	0,25	0,30
T180C	-0,19	0,04	0,07	0,07	0,02	0,03	0,05	-0,05	0,00	-0,04	-0,08	0,05	0,31	0,15	0,12	0,11	0,30	0,26	0,30
T180D	-0,33	-0,06	0,00	-0,06	-0,04	-0,04	0,03	-0,05	-0,15	-0,19	-0,54	-0,13	-0,01	-0,04	-0,05	0,11	0,31	0,27	0,34
T180E	-0,35	-0,05	-0,03	0,08	0,02	0,06	0,04	0,04	0,01	0,01	0,10	0,07	0,07	-0,07	-0,09	0,08	0,39	0,32	0,34
T180F	-0,30	-0,03	0,03	0,03	-0,02	-0,04	0,17	0,02	-0,08	0,03	0,15	0,14	-0,27	0,00	0,03	0,17	0,42	0,35	0,48
T180G	0,05	-0,42	-0,11	-0,03	-0,07	-0,03	0,07	0,22	0,00	0,78	0,86	0,32	-0,20	-0,28	-0,23	0,00	0,00	0,00	0,31
T180H	-0,25	-0,08	-0,02	-0,03	-0,06	-0,06	0,01	-0,04	-0,14	-0,09	-0,10	0,08	-0,31	-0,20	-0,04	0,13	0,36	0,29	0,39
T180I	-0,82	0,08	0,10	0,00	-0,08	-0,15	0,03	-0,10	-0,17	-0,26	-0,65	-0,05	-0,11	-0,57	-0,13	0,07	0,19	0,15	0,23
T180K	-0,56	-0,13	-0,03	-0,08	-0,10	-0,05	0,02	-0,01	-0,39	0,52	0,10	0,23	-0,03	-0,58	-0,17	0,09	0,29	0,24	0,32
T180L	-0,13	-0,10	-0,02	-0,07	-0,05	-0,06	-0,01	-0,02	-0,11	-0,02	-0,19	0,04	-0,20	-0,08	-0,02	0,14	0,36	0,30	0,38
T180M	-0,18	-0,13	-0,03	0,05	0,01	0,02	0,08	0,08	-0,02	0,16	-0,04	0,16	0,44	-0,36	-0,08	0,12	0,30	0,26	0,27
T180N	-0,19	-0,11	-0,03	-0,03	-0,03	-0,02	0,03	-0,03	-0,12	0,03	0,06	0,16	0,21	-0,18	-0,09	0,10	0,25	0,22	0,29
T180P	-1,47	-0,19	-0,04	-0,14	-0,23	-0,33	0,06	-0,06	-0,39	0,51	-0,12	0,29	-0,13	-0,79	-0,23	0,12	0,39	0,34	0,25
T180Q	-0,14	-0,34	-0,03	-0,09	-0,09	-0,05	0,08	0,05	0,06	0,16	0,09	-0,02	-0,09	-0,40	-0,24	0,00	0,00	0,00	0,35
T180R	-0,07	-0,13	0,02	0,00	-0,04	-0,08	0,06	-0,03	-0,16	0,01	0,45	0,15	0,51	-0,35	-0,05	0,08	0,23	0,20	0,22
T180S	-0,20	-0,06	-0,03	-0,03	-0,04	-0,05	-0,02	-0,04	-0,16	-0,15	-0,11	-0,03	-0,22	-0,18	-0,07	0,10	0,27	0,24	0,36
T180V	-0,78	-0,15	0,00	-0,05	-0,09	-0,12	0,13	0,04	-0,17	0,18	0,16	0,05	0,09	-0,64	-0,16	0,12	0,35	0,28	0,33
T180W	-0,17	-0,11	-0,02	-0,01	-0,05	-0,07	-0,05	-0,02	-0,20	-0,07	-0,08	0,04	0,34	-0,20	-0,12	0,09	0,23	0,20	0,26
T180Y	-0,50	-0,04	-0,03	-0,05	-0,04	-0,08	-0,04	-0,01	-0,12	0,17	-0,11	-0,16	-0,38	-0,08	-0,01	0,11	0,27	0,32	0,35
N181A	-0,27	-0,14	-0,04	0,03	0,02	0,02	-0,05	0,00	-0,02	0,60	0,19	0,08	0,43	-0,50	-0,30	0,10	0,26	0,24	0,26
N181C	-0,27	0,23	-0,01	0,09	0,05	0,03	0,17	0,08	0,07	0,03	-0,10	0,11	-0,99	-0,03	0,37	0,18	0,49	0,44	0,41
N181D	-1,22	-0,16	-0,04	-0,01	-0,05	-0,13	-0,09	-0,11	-0,11	0,09	-0,11	0,03	0,33	-0,80	-0,35	0,10	0,27	0,24	0,25
N181E	-0,52	-0,45	-0,11	-0,04	-0,11	-0,08	0,00	0,18	0,05	0,27	0,21	0,08	-0,29	-0,33	-0,25	0,00	0,00	0,00	0,30
N181F	-0,73	-0,12	-0,03	-0,09	-0,11	-0,15	0,11	-0,08	-0,13	0,11	0,07	-0,02	0,27	-0,63	-0,34	0,09	0,24	0,21	0,24
N181G	-0,75	-0,14	-0,04	-0,03	-0,01	-0,07	0,04	-0,02	-0,04	0,44	0,07	0,11	0,12	-0,79	-0,39	0,12	0,33	0,26	0,31
N181H	-0,69	-0,11	-0,03	0,00	-0,03	-0,08	0,10	-0,10	-0,11	0,36	0,25	0,23	0,25	-0,64	-0,25	0,11	0,32	0,27	0,28
N181I	-0,32	-0,13	-0,04	-0,02	-0,01	-0,04	-0,01	-0,02	-0,05	0,40	-0,03	0,07	0,27	-0,25	-0,24	0,10	0,30	0,26	0,29
N181K	-0,87	-0,12	-0,04	-0,14	-0,18	-0,25	0,01	-0,11	-0,32	1,10	0,17	0,22	-0,20	-0,90	-0,38	0,10	0,24	0,22	0,28
N181L	-0,14	-0,03	0,03	-0,04	-0,05	-0,02	-0,03	-0,06	-0,03	0,07	0,18	-0,04	0,17	-0,19	-0,11	0,09	0,30	0,25	0,33
N181M	-0,02	-0,34	-0,03	-0,06	-0,07	-0,04	0,11	0,13	0,03	0,44	0,41	0,17	-0,15	-0,40	-0,29	0,00	0,00	0,00	0,32
N181P	-1,25	-0,12	-0,05	0,02	-0,07	-0,14	-0,09	-0,01	-0,21	0,33	0,06	0,03	0,24	-0,89	-0,41	0,06	0,26	0,22	0,24
N181Q	-0,73	-0,05	-0,02	-0,07	-0,04	-0,14	0,04	-0,08	-0,17	-0,05	-0,07	0,01	-0,31	-0,55	-0,25	0,15	0,31	0,34	0,56
N181R	-0,79	-0,13	-0,04	-0,13	-0,15	-0,23	-0,01	-0,08	-0,19	0,60	0,22	0,21	-0,17	-0,81	-0,33	0,08	0,23	0,20	0,30
N181S	-0,42	-0,08	-0,04	-0,08	-0,02	-0,09	0,01	-0,08	-0,12	0,15	-0,05	0,17	0,09	-0,43	-0,23	0,13	0,40	0,33	0,35
N181T	-0,51	-0,06	-0,03	-0,06	-0,03	-0,08	0,00	-0,15	-0,09	-0,02	-0,16	0,15	0,03	-0,54	-0,27	0,12	0,36	0,28	0,34
N181V	-0,60	-0,15	-0,05	0,00	-0,06	-0,05	0,03	0,01	-0,11	0,37	0,07	0,08	0,54	-0,45	-0,26	0,09	0,28	0,24	0,27
N181W	-0,60	-0,15	-0,03	-0,08	-0,16	-0,30	-0,12	-0,06	-0,17	0,43	0,40	0,12	0,06	-0,91	-0,47	0,07	0,16	0,16	0,21
N181Y	0,02	-0,43	-0,04	-0,12	-0,11	-0,11	0,12	0,06	-0,01	0,29	0,22	0,11	-0,26	-0,20	-0,14	0,00	0,00	0,00	0,28