

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
COMISSÃO DE GRADUAÇÃO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DO BACHARELADO EM  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Aline Brugnera Felkl

Porto Alegre

2018

ALINE BRUGNERA FELKL

**CARACTERIZAÇÃO DO RECEPTOR DE ARGININA VASOPRESSINA  
(AVPR1b) EM PRIMATAS DO NOVO MUNDO (PRIMATA,  
PLATYRRHINI): IMPLICAÇÕES EVOLUTIVAS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação  
apresentado à Comissão de Graduação do Curso de  
Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção  
do grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

Aluna: Aline Brugnera Felkl

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cátira Bortolini

Porto Alegre

2018

Dedico este trabalho aos meus amados e venerados pais, Flávio Luiz Felkl e Alice Brugnera Felkl, que, mesmo distantes fisicamente, sempre estiveram presentes em meus pensamentos.

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Maria Cátira Bortolini, por ter me proporcionado a oportunidade de fazer parte da formidável equipe do Laboratório de Evolução Humana e Molecular (LEHM) nestes últimos anos; pelas críticas, sempre construtivas, e pela excelente capacidade de orientação.

Ao Rafael Bisso Machado, por todo o treinamento (e paciência!) na bancada; e, claro, pela amizade alicerçada a ótimos momentos compartilhados.

Ao Pedro Vargas Pinilla, pelo companheirismo e risadas proporcionadas. Pela extraordinária didática (explanações que transbordam amor!) e por todo o aprendizado e experiências propiciadas ao longo destes anos (ah, o Excel...).

Aos demais amigos e colegas do LEHM, tanto os atuais quanto os que já passaram por lá: Bibiana Fam, Lucas Viscardi, Guillermo Reales, Vanessa Jacovas, Pamela Paré, Michele Serafini, Vanessa R. Paixão Côrtes, Tabita Hunemeier, Gislene Lopes, Caio Cesar, Tiago Ferraz, Virginia Ramallo e Clênio Machado, pelos momentos agradáveis vividos em um ambiente profissional bastante prolífico.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição a este trabalho.

Aos amigos Caroline Baranzeli, Vitor Biermann, Philippe Pittigliani, Leonardo Timm e Vinícius Santiago, pelas risadas, mesas de RPG, viagens e momentos divertidíssimos compartilhados.

Ao meu companheiro, Stefano Calis, pelo apoio incondicional, carinho extraordinário, paciência, cumplicidade e amor vividos intensamente. Sou grata por teres vibrado com minhas vitórias e por permaneceres ao meu lado nos momentos difíceis e desafiadores destes últimos cinco anos.

Às minhas filhas de quatro patas, Lola e Maya, que, apesar das peripécias caninas, são uma fonte de acalento inesgotável.

E, por fim, mas acima de tudo, aos meus amados pais, Flávio Luiz Felkl e Alice Brugnera Felkl, muito obrigada pelo amor genuíno, carinho, confiança, suporte e apoio constantes. Os limites desta página não são suficientes para abrigar, em palavras, o quanto os amo e lhes sou grata. Saibam, entretanto, que vocês são os responsáveis diretos pelas minhas conquistas, e que, mesmo à distância, vocês permeiam meus pensamentos diariamente, trazendo-me forças e motivação para seguir em frente. Muito obrigada por tudo. Amo vocês.

*"Nature is not cruel, only pitilessly indifferent. This is one of the hardest lessons for humans to learn. We cannot admit that things might be neither good nor evil, neither cruel nor kind, but simply callous - indifferent to all suffering, lacking all purpose."*

R. Dawkins, 1995. *River Out of Eden: A Darwinian View of Life.*

## RESUMO

Os primatas do Novo Mundo (pNM; Primata, Platyrrhini) apresentam uma série de características consideradas incomuns entre mamíferos eutérios, sobretudo o sistema monogâmico, o cuidado paterno direto e gestações gemelares. Como consequência, o estudo destes primatas emerge como uma ferramenta inestimável para a descoberta do repertório genético subjacente a estes traços. Recentemente, nosso e outros grupos de pesquisa descreveram variantes táxon-específicas do neuropeptídeo oxitocina (OXT) em pNM, o qual contrasta com a rigorosa conservação evolutiva do neuropeptídeo homólogo, a arginina vasopressina (AVP), no mesmo grupo de animais. Algumas variantes de OXT têm sido associadas com as características comportamentais acima mencionadas, e suas funcionalidades foram recentemente demonstradas por nosso grupo de pesquisa. As funções de OXT e AVP são mediadas pela interação com receptores acoplados à proteína G (OXTR; AVPR1a, AVPR1b e AVPR2); consequentemente, a avaliação da variabilidade dos genes receptores torna-se fundamental para a compreensão da função e evolução do sistema como um todo. Este trabalho descreve a variabilidade da região codificadora do gene AVPR1b em espécies de pNM. Estudos comportamentais sugerem um papel central significativo deste receptor na modulação do estresse, agressividade, ansiedade e comportamento social em mamíferos eutérios. Nossos resultados indicam que a evolução molecular do AVPR1b pode ser explicada por modelos que assumem seleção positiva, apesar de um número significativo de sítios (20%) possuir assinaturas de relaxamento da pressão seletiva; isto denota a existência de regiões do gene cuja evolução é compatível com o modelo de neutralidade/pré-adaptativo. Considerando o papel conhecido do AVPR1b, sugerimos que algumas das alterações descritas neste trabalho para os Platyrrhini possam consistir em componentes do repertório genético subjacente à rede complexa de mecanismos neuroendócrinos associados ao eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), de modo que podem ter promovido a emergência de comportamentos vantajosos como o cuidado paterno direto em espécies socialmente monogâmicas, caracterizadas também por um diminuto tamanho corporal e gestações gemelares.

**Palavras-chave:** Primatas do Novo Mundo, evolução molecular, AVPR1b, comportamento social, traços reprodutivos.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>9</b>
2.1	PRIMATA, PLATYRRHINI: CONTEXTO TAXONÔMICO.....	9
2.2	CUIDADO PATERNO E MONOGAMIA SOCIAL.....	12
2.3	O SISTEMA OXITOCINA-VASOPRESSINA (OXT-AVP).....	14
2.4	O RECEPTOR 1B DA VASOPRESSINA (AVPR1B).....	18
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
4.1	OBJETIVO GERAL.....	21
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>22</b>
5.1	AMOSTRAS.....	22
5.2	EXTRAÇÃO DE DNA.....	23
5.3	AMPLIFICAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO DNA.....	24
5.4	SEQUENCIAMENTO.....	25
5.5	ANÁLISE DE DADOS.....	25
5.5.1	<i>Predição de Motivos Lineares</i> .....	25
5.5.2	<i>Análises Evolutivas</i> .....	25
5.5.3	<i>Associação Fenotípica</i> .....	26
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>34</b>
<b>8</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>38</b>
<b>9</b>	<b>PARECER DE ÉTICA E AUTORIZAÇÕES</b> .....	<b>38</b>
<b>10</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>39</b>
	<b>APÊNDICE A</b> .....	<b>46</b>
	<b>APÊNDICE B</b> .....	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A ordem Primata é constituída por mamíferos com uma rica diversidade de adaptações morfológicas, comportamentais e ecológicas. Embora este clado seja bem conhecido por sua diversidade de estruturas sociais e estratégias reprodutivas, em primatas do Novo Mundo (pNM) estas características são particularmente notáveis. Durante os últimos 46 milhões de anos, todos os tipos de sistemas de acasalamento evoluíram neste grupo (DI FIORE e RENDALL, 1994; RENDALL e DI FIORE, 2007), dentre os quais os sistemas monogâmicos e o cuidado paterno direto, além da gestação gemelar – estratégias bastante raras entre mamíferos eutérios em geral.

Há um conjunto crescente de evidências a partir de estudos genéticos comportamentais de primatas e outros mamíferos que sugerem que alguns fenótipos comportamentais complexos são, de fato, diretamente influenciados pela variação genética subjacente a eles (ROBINS et al., 2005; BURMEISTER et al., 2008). Dois neuropeptídeos hipotalâmicos, oxitocina (OXT) e arginina vasopressina (AVP), emergiram como importantes moduladores da função cerebral e têm sido repetidamente implicados em comportamentos sociais de mamíferos (CARTER et al., 2008; DONALDSON e YOUNG, 2008; FRENCH et al., 2016). Estes neuro-hormônios agem por meio da interação com seus respectivos receptores (OXTR; AVPR1a, AVPR1b e AVPR2). A alta similaridade de OXT e AVP aliada à igualmente alta homologia da porção extracelular (~80%) de seus receptores permite a ocorrência de ativação cruzada neste sistema, porém com diferentes níveis de afinidade entre os neuropeptídeos e os receptores (CHINI et al., 1995; KOEHBACH et al., 2013); conseqüentemente, a avaliação da variabilidade dos genes receptores torna-se fundamental para a compreensão da função e evolução do sistema como um todo.

À vista destas informações, e considerando o escasso conhecimento sobre a variabilidade molecular e os padrões evolutivos do AVPR1b, o presente estudo tem como objetivo fornecer novas informações sobre as sequências codificadoras deste receptor para 20 espécies de pNM, além de testar se a evolução molecular deste receptor é compatível com a teoria neutra. Adicionalmente, exploramos a possibilidade das variantes do AVPR1b em primatas do Novo Mundo serem uma parte essencial do repertório genético básico que permitiu a emergência de traços táxon-específicos raros, como o cuidado paterno direto, a monogamia social e a gestação gemelar.

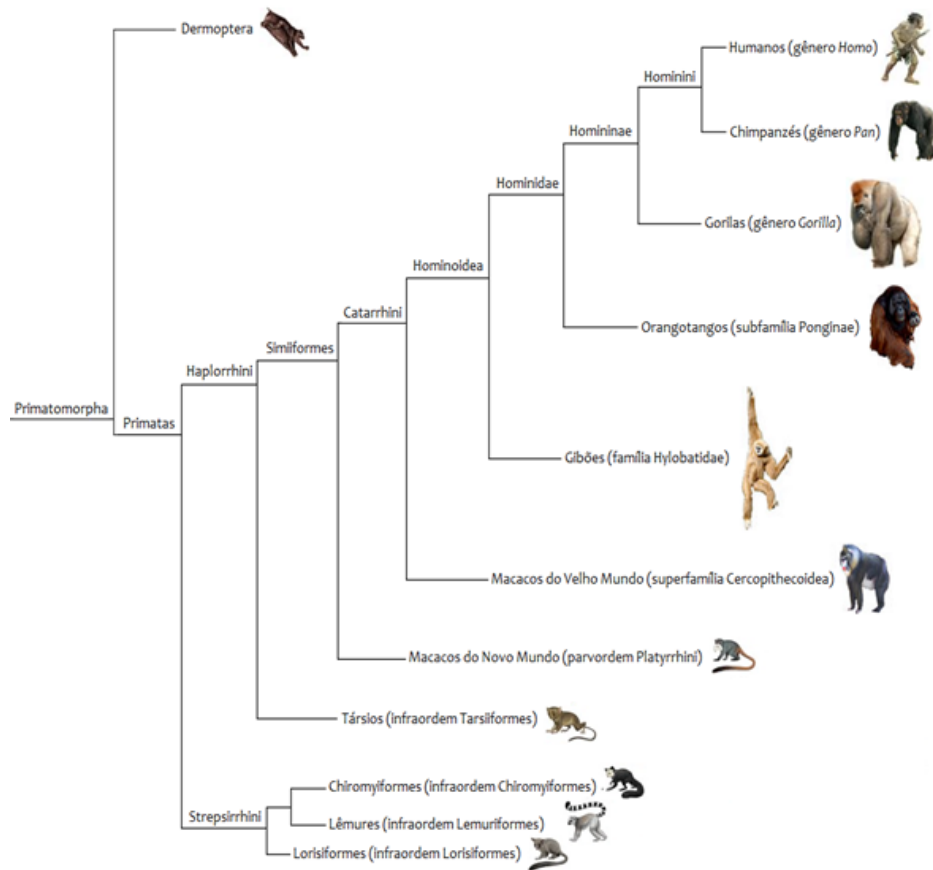


## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

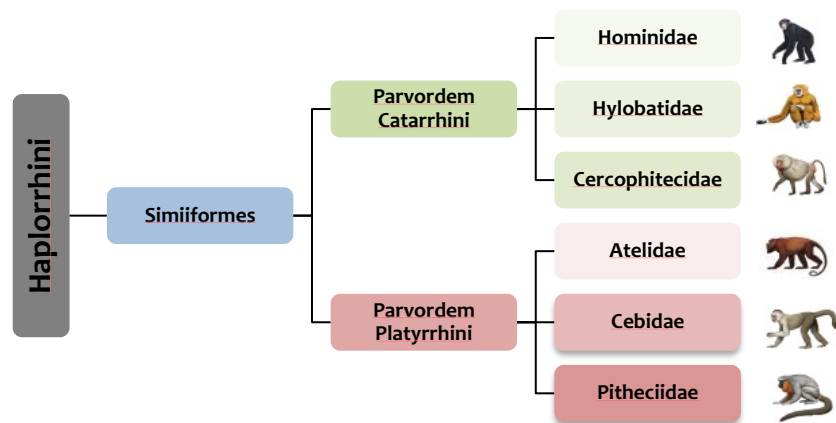
### 2.1 Primata, Platyrrhini: Contexto Taxonômico

Os primatas foram tradicionalmente divididos em duas subordens: prossímios e antropoides (símios), refletindo o grau pelo qual as espécies expressam características derivadas ou similares aos primatas mais primitivos (WHITTEN e BROCKMAN, 2001). Os lóris, galagos, lêmures e társios foram agrupados com base em semelhanças morfológicas e comportamentais na classe dos prossímios, enquanto os primatas do Novo e do Velho Mundo, e os grandes primatas, incluindo os humanos, foram considerados pertencentes ao grau de organização antropeide. Todavia, esta divisão não reflete adequadamente as relações filogenéticas entre as espécies, considerando-se que os társios estão mais intimamente relacionados aos primatas Simiiformes do que aos strepsirrhinos (Figura 1). Portanto, a classificação da ordem Primata mais aceita atualmente compreende as subordens Strepsirrhini (“narina torcida”) e Haplorrhini (“narina simples”), cuja divergência entre clados ocorreu há aproximadamente 75 milhões de anos (POZZI et al., 2014).

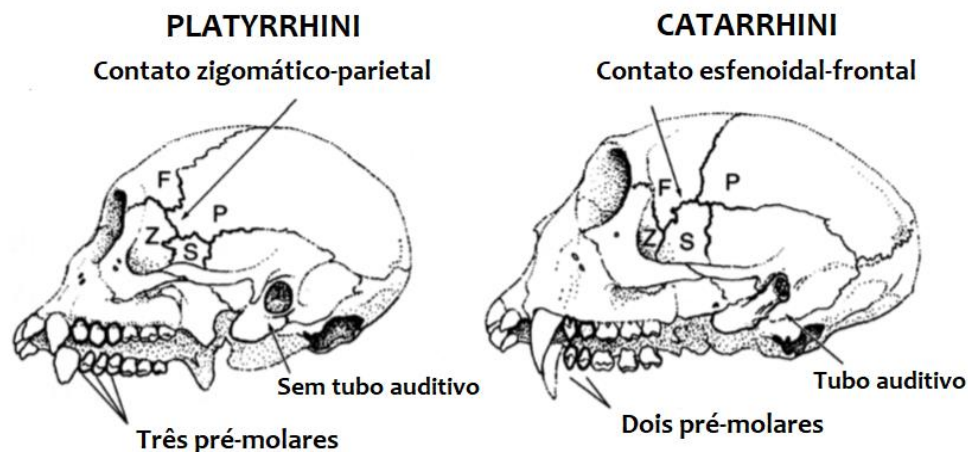
A subordem Strepsirrhini, caracterizada pela presença de rinário, é subdividida nas infraordens Lemuriformes, Lorisiformes e Chiromyiformes. Membros da linhagem Haplorrhini estão classificados nas infraordens Tarsiiformes e Simiiformes. Os símios, por sua vez, dividem-se em duas parvordens: Catarrhini e Platyrrhini. Os catarrinos incluem os “primatas do Velho Mundo” (superfamília Cercopithecoidea; primatas cuja ocorrência abrange a África e Ásia) e os grandes primatas (superfamília Hominoidea; WILSON e REEDER, 2005). A classificação filogenética dos platirrhinos, ou “primatas do Novo Mundo” devido à sua distribuição geográfica (América do Sul e Central), permanece controversa (SCHNEIDER e SAMPAIO, 2015); entretanto, neste trabalho adotamos a classificação filogenética de PERELMAN et al. (2011), cujos integrantes da parvordem Platyrrhini dispõem-se em três famílias: Cebidae, Atelidae e Pitheciidae (Figura 2). Os platirrhinos distinguem-se dos demais primatas por possuírem narinas arredondadas amplamente espaçadas e voltadas para os lados e, em geral, dentição com três pré-molares por quadrante. Em contraste, os Catarrhini têm narinas inclinadas e orientadas para baixo e uma dentição com apenas dois pré-molares (FLEAGLE, 2013). Dessemelhanças craniais quanto aos ossos do ptério e a morfologia do ouvido também podem ser contrastadas, como ilustra a Figura 3.



**Figura 1:** Classificação da Ordem Primata com base nas informações disponíveis em Animal Diversity Web (<http://animaldiversity.org/>) e POZZI et al., 2014.



**Figura 2:** Parvordens Catarrhini e Platyrrhini e suas respectivas famílias, conforme classificação adotada (PERELMAN et al., 2011; SCHNEIDER e SAMPAIO, 2015).



**Figura 3:** Diferenças craniais entre Catarrhini e Platyrrhini. Adaptada de SELLERS (2000).

Os primatas do Novo Mundo são de pequeno a médio porte, variando do sagui pigmeu (*Cebuella pygmaea*; o menor primata do mundo) com 14-16 cm e com peso de 120-190 g, até o muriqui do sul (*Brachyteles arachnoides*), com 55-70 cm e com peso de 12-15 kg. Além disso, os pNM são os únicos que possuem representantes com cauda preênsil (HERSHKOVITZ, 1978). Primatas platirrininos podem formar casais monogâmicos (saguís, sauás, macacos-da-noite), constituir um sistema poliândrico (saguís), haréns (bugios) ou grupos com vários machos e fêmeas que acasalam entre si (macacos-aranha). Em geral apresentam um forte cuidado parental aos jovens. Podem exibir grande dimorfismo sexual, com diferenças no tamanho corpóreo entre machos e fêmeas, diferenças no comprimento dos caninos e, mais raramente, dicromatismo sexual (PLAVCAN, 2001).

A Tabela 1 apresenta as famílias, subfamílias e os gêneros de Platyrrhini, com destaque à subfamília Callitrichinae. Os calitriquíneos apresentam características incomuns aos demais platirrininos e primatas em geral, entre as quais o tamanho e massa corporal diminutos (entre 115g e 600g), redução ou ausência dos terceiros molares (com exceção do gênero *Callimico*), produção regular de gêmeos dizigóticos (constituem mais de 80% dos nascimentos nas espécies que foram estudadas; novamente com exceção do gênero *Callimico*, que gera filhotes únicos por gestação), e, ao contrário dos demais primatas antropóides, os machos fornecem geralmente tanto cuidado parental quanto as fêmeas. O casal reprodutor e sua prole constituem a estrutura social típica nesta subfamília (RYLANDS, 2009). A alta fecundidade dos calitriquíneos está relacionada a adaptações fisiológicas e comportamentais adequadas à necessidade de criação de múltiplos descendentes (DÍAZ-MUÑOZ, 2016). Evidências sugerem que a gestação gemelar

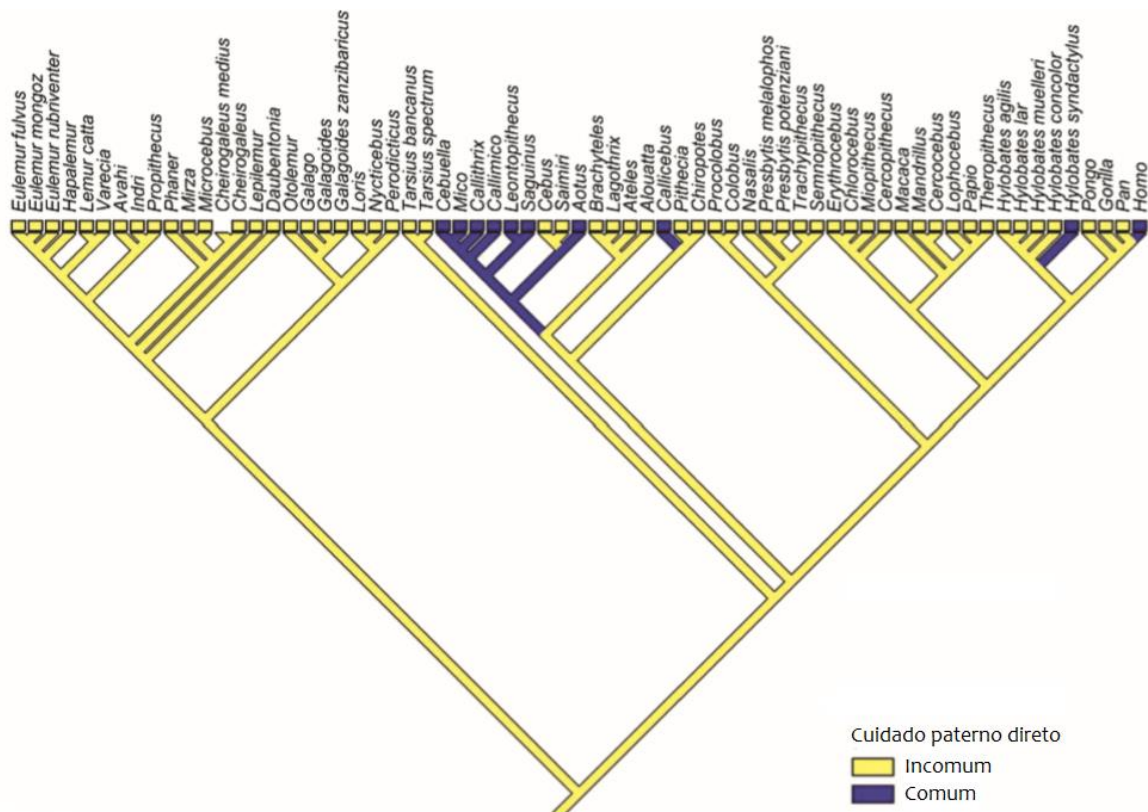
em Callithrichinae constitui um traço derivado entre os primatas e entre os Platyrrhini em particular (CIOCHAN e FLEAGLE, 1988).

**Tabela 1:** Famílias, subfamílias e gêneros da parvordem Platyrrhini.

Família	Subfamília	Gênero
Cebidae	Callithrichinae	<i>Cebuella</i> <i>Mico</i> <i>Callithrix</i> <i>Callimico</i> <i>Saguinus</i> <i>Leontopithecus</i>
	Saimirinae	<i>Saimiri</i>
	Cebinae	<i>Cebus</i> <i>Sapajus</i>
	Aotinae	<i>Aotus</i>
Pitheciidae	Callicebinae	<i>Callicebus</i>
	Pitheciinae	<i>Pithecia</i> <i>Chiropotes</i> <i>Cacajao</i>
Atelidae	Alouattinae	<i>Alouatta</i>
	Atelinae	<i>Ateles</i> <i>Brachyteles</i> <i>Lagothrix</i>

## 2.2 Cuidado Paterno e Monogamia Social

Na subfamília Callithrichinae, o peso conjunto dos gêmeos ao nascerem representa até 30% do peso da mãe (LUKAS e CLUTTON-BROCK, 2013). Ademais, a lactação e a gestação ocorrem simultaneamente nas fêmeas calitriquíneas, devido ao estro pós-parto precoce (STOREY e ZIEGLER, 2016). Para garantir a sobrevivência de dois filhotes relativamente grandes cuja mãe está grávida novamente, são necessários esforços adicionais de outros indivíduos (por exemplo, do pai e dos irmãos mais velhos; CLEVELAND e SNOWDON, 1984). A Figura 4 apresenta a filogenia do cuidado paterno entre os táxons da ordem Primata, evidenciando uma maior concentração do fenótipo entre os calitriquíneos. O cuidado paterno também está presente no gênero *Callicebus* (família Pitheciidae), na espécie *Hylobates syndactylus* (família Hylobatidae) e no gênero *Homo* (família Hominidae). Curiosamente, esta característica parece ter emergido de modo independente duas vezes nos Platyrrhini: uma vez no ramo ancestral da família Cebidae, e outra vez no ramo que deu origem ao gênero *Callicebus*.



**Figura 4:** Filogenia da ordem Primata indicando os táxons em que o cuidado paterno é direto e conspícuo. Adaptada de FERNÁNDEZ-DUQUE et al. (2009).

O cuidado paterno, segundo a definição de FERNÁNDEZ-DUQUE et al. (2009), é um conjunto de comportamentos dirigidos à prole e desempenhados por um macho adulto que têm efeitos positivos sobre o desenvolvimento, sobrevivência ou bem-estar dos infantes. É notório que o comportamento materno observado nos mamíferos está relacionado, dentre outros fatores, a alterações hormonais que também estão envolvidas no parto e na lactação, ou seja, flutuações de estrógeno, progesterona e oxitocina (SALTZMAN e MAESTRIPIERI, 2011); por outro lado, as bases hormonais do cuidado paterno aludem, entre outros neuro-hormônios, os efeitos da vasopressina, oxitocina, prolactina e testosterona, como fundamentais para a emergência deste fenótipo (WYNNE-EDWARDS, 2001; NUNES et al., 2001; ALBERS, 2015).

Conforme LUKAS e CLUTTON-BROCK (2013), a evolução do cuidado paterno parece ter sucedido a evolução da monogamia social. A monogamia em mamíferos teria evoluído em um contexto onde a competição entre fêmeas por alimentos era intensa, fêmeas reprodutoras eram intolerantes entre si e a densidade populacional era baixa. Nestas condições, custodiar fêmeas individuais poderia representar a estratégia de reprodução mais eficiente para

os machos. LUKAS e CLUTTON-BROCK (2013) analisaram os sistemas sociais de 2545 espécies de mamíferos, entre as quais 68% foram consideradas solitárias, 23% viviam em grupos sociais e 9% eram monogâmicas sociais. A ordem dos primatas constitui um clado de mamíferos em que a ocorrência de monogamia social é notável (29% das 361 espécies analisadas). Convém destacar que a incidência de monogamia social entre os pNM é excepcionalmente alta – mais de 62% das ~177 espécies neste grupo de primatas são classificadas como socialmente monogâmicas (KLEIMAN e MALCOLM, 1981; LUKAS e CLUTTON-BROCK, 2013).

### **2.3 O Sistema Oxitocina-Vasopressina (OXT-AVP)**

Há um conjunto crescente de evidências a partir de estudos genéticos comportamentais de primatas e outros mamíferos que sugerem que alguns fenótipos comportamentais complexos são, de fato, diretamente influenciados pela variação genética subjacente a eles (ROBINSON et al., 2005; BURMEISTER et al., 2008). Por exemplo, verificou-se que a variação no comprimento da região regulatória do gene receptor da vasopressina *AVPR1a* no roedor *Microtus ochrogaster* está associada a diferenças individuais em características associadas ao comportamento de ligação social dos machos com as fêmeas e ao cuidado paterno (HAMMOCK e YOUNG, 2005). Além disso, diferenças interespecíficas na expressão deste receptor no cérebro também têm sido associadas à monogamia social (INSEL et al., 1994; LIM et al., 2004). Logo, identificando-se loci genéticos funcionais, é possível determinar as causas moleculares que permitiram a emergência de comportamentos adaptativos.

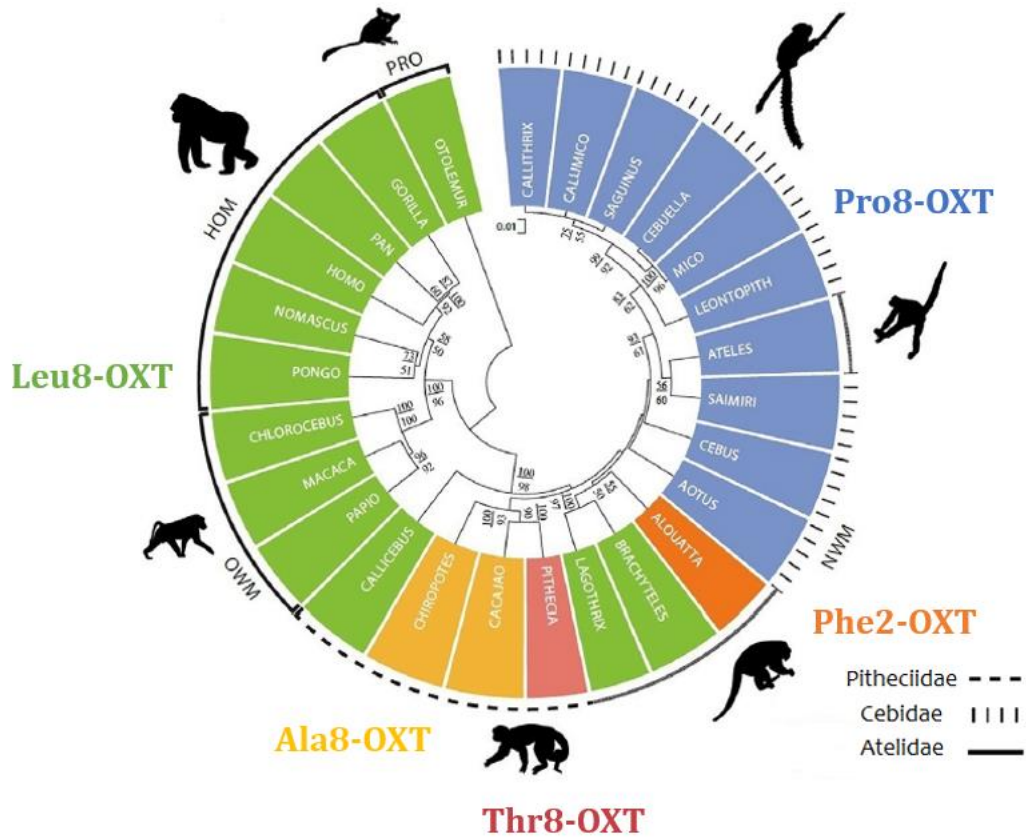
Dois neuropeptídeos hipotalâmicos, oxitocina (OXT) e arginina vasopressina (AVP), emergiram como importantes moduladores da função cerebral e têm sido repetidamente implicados em comportamentos sociais de mamíferos (CARTER et al., 2008; DONALDSON e YOUNG, 2008; FRENCH et al., 2016). Estes nonapeptídeos são sintetizados principalmente em neurônios neurosecretores magnocelulares nos núcleos paraventricular e supraóptico do hipotálamo. Os efeitos neuroendócrinos periféricos de OXT e AVP são mediados pela liberação dos hormônios na circulação sistêmica a partir da hipófise posterior, formando o sistema hipotálamo-neurohipofisário (ARMSTRONG, 2014; WAITE et al., 2014). Os efeitos centrais destes neuropeptídeos moduladores são produzidos por meio de projeções neuronais para uma série de regiões do prosencéfalo que possuem alta expressão de seus receptores (STOOP 2012, 2014).

OXT e AVP provavelmente evoluíram por duplicação gênica a partir do nonapeptídeo ancestral vasotocina (VT), há pelo menos 600 milhões de anos (GOODSON, 2008; GRUBER, 2014). São nonapeptídeos estruturalmente muito semelhantes, cada um dos quais compreendendo um anel hexapeptídico e uma cauda tripeptídica. Distinguem-se nas sequências peptídicas consenso dos mamíferos por duas diferenças de aminoácidos, nas posições três e oito (OXT – Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly; AVP – Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly). Além do papel periférico fisiológico clássico da oxitocina na lactação e no parto, e da vasopressina como um hormônio antidiurético, ambos os neuropeptídeos possuem funções centrais que cobrem uma variedade de comportamentos complexos e atividades sociais: memória social, apego, atividade sexual, comportamento materno, escolha do parceiro, agressividade, modulação do estresse e cuidado parental (CAMPBELL, 2010; INSEL, 2010; BOSCH e NEUMANN, 2012; YANG et al., 2013).

A sinalização dos neuropeptídeos requer o reconhecimento e a ligação destes por receptores celulares apropriados. No caso de OXT e AVP, essa função é exercida por receptores acoplados à proteína G (GPCRs) ligados à membrana celular. Quatro tipos de receptores foram identificados em mamíferos: um único receptor para a OXT (OXTR) e três subtipos de receptores para a AVP (AVPR1a, AVPR1b e AVPR2). Os quatro receptores possuem expressão periférica tecido-específica (GIMPL e FAHRENHOLZ, 2001; KOSHIMIZU et al., 2012), e *OXTR*, *AVPR1a* e *AVPR1b* são também amplamente expressos no sistema nervoso central (SNC). Essa distribuição inclui substancial sobreposição com os substratos neurais que regulam o comportamento social em mamíferos (Social Behavior Network – SBN; NEWMAN, 1999; ALBERS, 2015).

Até recentemente, revisões sobre evolução e estrutura de nonapeptídeos indicaram, de forma quase axiomática, que a estrutura da OXT estaria absolutamente conservada em todas as espécies de mamíferos placentários (DONALDSON e YOUNG, 2008; LEE et al., 2009; INSEL, 2010). Contudo, Lee e col. (2011) sequenciaram as regiões codificantes do gene *OXT* em cinco espécies de primatas do Novo Mundo, revelando uma inesperada substituição nucleotídica não-sinônima (NS) no códon que codifica o oitavo aminoácido do nonapeptídeo (CTG→CCG; Leu<sup>8</sup>→Pro<sup>8</sup>) em quatro das cinco espécies analisadas, produzindo uma variante única de OXT (Pro<sup>8</sup>-OXT) entre os mamíferos eutérios. Em 2015, nosso grupo de pesquisa reportou três novas formas de OXT (Thr<sup>8</sup>-OXT, Ala<sup>8</sup>-OXT, Figuras 5 e 6; e Val<sup>3</sup>Pro<sup>8</sup>-OXT, Figura 6) em pNM (VARGAS-PINILLA et al., 2015); adicionalmente, Ren e col. (2015)

reportaram a variante Phe2-OXT também em primatas do Novo Mundo (Figuras 5 e 6). Essas variantes raras de OXT foram estatisticamente associadas à presença de cuidado paterno (VARGAS-PINILLA et al., 2015) e de monogamia social (REN et al., 2015) nestes primatas.

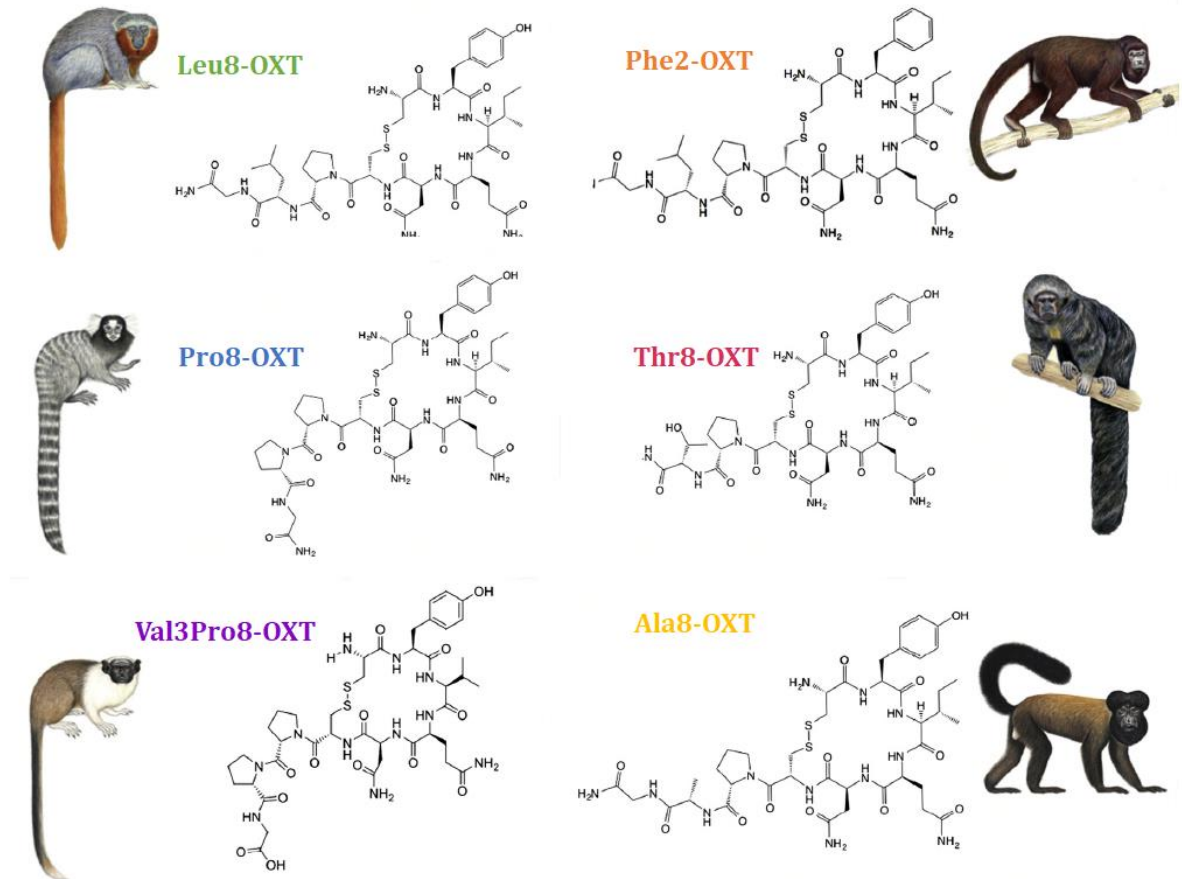


**Figura 5:** Cinco ligantes OXT identificados em primatas do Novo Mundo. As variantes estão representadas em uma distribuição gerada por uma árvore filogenética das sequências nucleotídicas de OXTR. Leu<sup>8</sup>-OXT, considerada a forma comum da oxitocina, é encontrada em *Brachyteles* e *Lagothrix* (família Atelidae), *Callicebus* (Pitheciidae), nos primatas do Velho Mundo, nos hominídeos e em outros mamíferos; todos os cebídeos e o gênero *Ateles* (família Atelidae) portam uma Pro<sup>8</sup>-OXT; entre os Pitheciinae, uma Ala<sup>8</sup>-OXT é encontrada em *Chiropotes* e *Cacajao*, enquanto que *Pithecia* carrega uma Thr<sup>8</sup>-OXT. Por fim, uma Phe<sup>2</sup>-OXT foi descoberta no gênero *Alouatta* (família Atelidae). Adaptada de REN et al. (2015).

Cada uma das substituições aminoacídicas nas posições dois, três e oito da OXT em macacos do Novo Mundo representa, pelo menos, uma mudança nas propriedades físico-químicas (polaridade, carga ou hidrofobicidade) a partir do resíduo correspondente na OXT consenso dos mamíferos. Por conseguinte, estas alterações podem ser classificadas como substituições “radicais” de aminoácidos. (ZHANG, 2000; FRENCH et al., 2016), conduzindo a propriedades bioquímicas alteradas que poderiam ter implicações importantes para a ligação



neuropeptídeo-receptor e subsequente sinalização celular (KOEHBACH et al., 2013). Em contrapartida, todas as espécies de primatas investigadas até o momento, incluindo os primatas do Novo Mundo, possuem conservada a sequência peptídica consenso dos mamíferos para a AVP (REN et al., 2014; VARGAS-PINILLA et al., 2015).



**Figura 6:** Modelos estruturais de duas dimensões das seis variantes de OXT identificadas em pNM até o momento. Os táxons exemplares são *Callicebus* (Leu<sup>8</sup>-OXT), *Callithrix* (Pro<sup>8</sup>-OXT), *Saguinus bicolor* (Val<sup>3</sup>Pro<sup>8</sup>-OXT), *Alouatta* (Phe<sup>2</sup>-OXT), *Pithecia* (Thr<sup>8</sup>-OXT) e *Chiropotes* (Ala<sup>8</sup>-OXT). Adaptada de FRENCH et al. (2016).

A alta similaridade de OXT e AVP aliada à igualmente alta homologia da porção extracelular (~80%) de seus receptores permite a ocorrência de ativação cruzada neste sistema, porém com diferentes níveis de afinidade entre os nonapeptídeos e os receptores (CHINI et al., 1995; KOEHBACH et al., 2013). À vista disso, e considerando a importante e abrangente relação coevolutiva entre a variação na estrutura do ligante e as alterações paralelas na estrutura do receptor (MARKOV et al., 2008), como as detectadas por nosso grupo de pesquisa no sistema OXT/OXTR (VARGAS-PINILLA et al., 2015), torna-se evidente a necessidade de

uma abordagem de estudo que inclua análises da variabilidade molecular tanto dos nonapeptídeos (OXT/AVP) quanto dos receptores (OXTR, AVPR1a, AVPR1b e AVPR2), para que sejam compreendidas as possíveis implicações, diretas ou indiretas, das variabilidades intra e intermoleculares em padrões comportamentais complexos espécie ou grupo específicos.

Os GPCRs do sistema OXT-AVP possuem sete domínios transmembrana (T1-T7), quatro segmentos extracelulares (o N-terminal e três laços extracelulares, ECL1-3), que são essenciais para a interação com os peptídeos; e quatro segmentos intracelulares (o C-terminal e três laços intracelulares, ICL1-3), relevantes para a interação com proteínas G e outros efetores. Uma mudança conformacional induzida por ligante permite que o GPCR interaja com proteínas G, promovendo a ativação da cascata de sinalização intracelular. Após a ligação do ligante, o recrutamento de  $\beta$ -arrestinas suscita a terminação da sinalização e promove a internalização dos receptores (ROSENBAUM et al., 2009).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa (PARREIRAS-E-SILVA et al., 2017) demonstrou que as variantes de OXT – Leu<sup>8</sup>-OXT, Pro<sup>8</sup>-OXT (cebídeos) e Val<sup>3</sup>Pro<sup>8</sup>-OXT (*Saguinus*) – são agonistas eficazes para as vias dependentes das proteínas G; no entanto, elas diferem quanto à capacidade de recrutamento da  $\beta$ -arrestina, diminuindo (Pro<sup>8</sup>-OXT) ou evitando (Val<sup>3</sup>Pro<sup>8</sup>-OXT) a internalização do OXTR. A Val<sup>3</sup>Pro<sup>8</sup>-OXT também apresentou capacidade reduzida de recrutamento da  $\beta$ -arrestina após a interação com AVPR1a. A eficiência destas variantes em estimular o cuidado paterno em ratos também foi constatada no mesmo estudo (PARREIRAS-E-SILVA et al., 2017).

## 2.4 O Receptor 1b da Vasopressina (AVPR1b)

A variabilidade das regiões codificadoras e/ou reguladoras dos genes *OXTR* e *AVPR1a* é relativamente conhecida em primatas do Novo Mundo. Estudos anteriores sobre espécies deste clado indicaram que tanto OXTR quanto AVPR1a apresentam altas taxas evolutivas e sinais de seleção positiva em primatas; adicionalmente, a relevância das variações nestes dois receptores para a emergência de fenótipos adaptativos, como a monogamia social e cuidados paternos, tem sido bastante investigada (BABB et al., 2015; REN et al., 2014, 2015; VARGAS-PINILLA et al., 2015, 2016). Modificações nos domínios intracelulares do OXTR têm possíveis consequências para a internalização e dessensibilização do receptor, ao passo que mudanças em regiões relevantes para o reconhecimento do ligante afetam a afinidade e seletividade ao mesmo

(VARGAS-PINILLA et al., 2015; REN et al., 2015). Pouco é compreendido quanto à variação dos genes *AVPR1b* e *AVPR2*.

O *AVPR1b* é expresso em uma variedade de tecidos que compõem o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), incluindo o pâncreas e a glândula adrenal, onde tem sido associado à liberação de insulina e catecolaminas, respectivamente; também é intensamente expresso nos corticotrofos da hipófise anterior, onde atua na mediação da liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), modulando a biossíntese de importantes glicocorticoides (por exemplo, cortisol e corticosterona; KOSHIMIZU et al., 2012; STEVENSON e CALDWELL, 2012). A função dos glicocorticoides na regulação da reprodução e dos comportamentos parentais em primatas humanos e não humanos está bem estabelecida (STOREY & ZIEGLER, 2016). No cérebro de rato, este receptor foi localizado em áreas como o cerebelo, córtex cerebral, hipocampo, PVN e bulbo olfatório (HERNANDO et al., 2001). Estudos farmacológicos utilizando o antagonista do receptor *AVPR1b*, SSR149415, bem como dados obtidos a partir de testes com camundongos *knockout* para *AVPR1b* (*AVPR1b* *-/-*), sugerem um papel central significativo deste receptor na modulação do estresse, humor e comportamento social em mamíferos (Tabela 2). Camundongos *knockout* para *AVPR1b* machos e fêmeas diferiram quanto a ativação de áreas cerebrais relacionadas a comportamentos agressivos e à memória de reconhecimento social, denotando o papel sexo-específico deste receptor.

Por fim, podemos formular a hipótese de que a capacidade de controlar a agressividade e a ansiedade pode ser essencial em um contexto onde os machos – aparentados ou não – provêm cuidados diretos aos infantes; neste cenário, o gene *AVPR1b* emerge como um potencial alvo para alterações de provável relevância funcional e impacto evolutivo.

**Tabela 2:** Estudos comportamentais realizados em camundongos *AVPR1b* *-/-* e em roedores tratados com SSR149415 sugerem participação central do AVPR1b na modulação do comportamento.

Comportamento	Teste Comportamental	<i>AVPR1b</i> <i>-/-</i>	SSR149415	Referências
Agressividade	Dominância social ( <i>mounting behavior</i> )	↑	N/A	CALDWELL et al., 2010
	Competitivo ( <i>food deprivation</i> )	↓	N/A	WERSINGER et al., 2007
	Defensivo ( <i>attack avoidance</i> )	← →	N/A	WERSINGER et al., 2007
	Defensivo ( <i>reverse resident-intruder</i> )	↓	↓	WERSINGER et al., 2007; GRIEBEL et al., 2002
	Maternal ( <i>pup defense</i> )	↓	N/A	WERSINGER et al., 2007
	Predatório ( <i>attack cricket</i> )	← →	N/A	WERSINGER et al., 2007
	Ofensivo ( <i>neutral arena</i> )	↓	N/A	WERSINGER et al., 2002
	Ofensivo ( <i>resident intruder</i> )	↓	↓	WERSINGER et al., 2002; CALDWELL e YOUNG, 2009; BLANCHARD et al., 2005 (hamster); GRIEBEL et al., 2002 (mouse)
Memória social/Memória	Identificação animal conhecido / desconhecido	↓	N/A	DEVITO et al., 2009
	Memória de ordem temporal	↓	N/A	DEVITO et al., 2009
	Efeito Bruce	↓	N/A	WERSINGER et al., 2008
	Distinção fêmea conhecida / fêmea desconhecida	↓	N/A	WERSINGER et al., 2002
Motivação social/Preferência	Sociabilidade ( <i>familiar littermate interaction</i> )	↓	N/A	DEVITO et al., 2009
	Preferência social ( <i>novel animal vs. novel object</i> )	← →	N/A	YANG et al., 2007
Ansiedade social	Preferência de leito ( <i>olfactory</i> )	↓	N/A	WERSINGER et al., 2004
	Teste de sociabilidade após derrota social crônica	N/A	↓	LITVIN et al., 2011

As setas indicam o efeito da interrupção do AVPR1b com relação aos animais controles. ↑ = comportamento intensificado; ↓ = comportamento reduzido; ← → = sem diferença comportamental.

### 3 JUSTIFICATIVA

Diante do exposto acerca da variabilidade molecular da oxitocina em primatas do Novo Mundo identificada pelo nosso e por outros grupos de pesquisa, bem como do processo de reatividade cruzada observado entre os neuropeptídeos e os receptores, surge a hipótese de que as novas variantes de OXT levariam a mudanças significativas de afinidade aos receptores da vasopressina (AVP), considerando a similaridade estrutural entre os dois nonapeptídeos e a alta homologia da porção extracelular dos receptores. Embora haja associações corroboradas entre o receptor AVPR1b e a modulação do comportamento social, os estudos de genética comportamental em primatas do Novo Mundo se restringem à variabilidade molecular e aos padrões evolutivos dos receptores OXTR e AVPR1a (VARGAS-PINILLA et al., 2015; REN et al., 2014, 2015; FRENCH et al., 2016).

### 4 OBJETIVOS

#### 4.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo geral caracterizar genética e evolutivamente o receptor de arginina vasopressina *AVPR1b* em primatas do Novo Mundo.

#### 4.2 Objetivos Específicos

- Identificar variações genéticas espécie- ou grupo-específicas no receptor de vasopressina AVPR1b em pNM;
- Determinar os padrões evolutivos da região codificadora do gene *AVPR1b* em pNM;
- Identificar alterações em regiões estruturais importantes do AVPR1b, como sítios de ligação ligante-receptor;
- Averiguar relações entre variantes moleculares no AVPR1b e características reprodutivas e comportamentais nos primatas investigados.

Convém salientar que participei da geração e análise dos dados para atingir os objetivos descritos acima, os quais foram atingidos de forma bem-sucedida devido ao trabalho em conjunto com outros membros do Laboratório de Evolução Humana e Molecular (LEHM).

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 Amostras

Foram investigadas amostras de sangue e/ou tecido de 20 indivíduos representantes de 20 espécies de pNM. Dezenove foram fornecidas pelo Centro de Primatologia do Rio de Janeiro – CPRJ, cujas coordenadas geográficas são 22°27'S-22°32'S e 42°50'W-42°56'W, localizado no município de Guapimirim, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Uma amostra de tecido de um indivíduo da espécie *Alouatta guariba* foi cedida pelo Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA/Canoas).

As análises incluíram ainda as sequências codificadoras do gene *AVPR1b* de 24 espécies de primatas (subordem Strepsirrhini e parvordem Catarrhini), bem como de duas espécies de mamíferos eutérios filogeneticamente próximas aos primatas, utilizadas como grupos externos (*Tupaia chinensis*, Scandentia; *Galeopterus variegatus*, Dermoptera; Tabela 3). As sequências foram extraídas das plataformas NCBI GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) e Ensembl (<http://www.ensembl.org>).

**Tabela 3:** Espécies e códigos de acesso às sequências utilizadas neste trabalho.

Grupo	Espécie	AVPR1b
Catarrhini	<i>Cercocebus atys</i>	XM_012039814.1
	<i>Chlorocebus sabaues</i>	XM_007988695.1
	<i>Colobus angolensis</i>	XM_011937372.1
	<i>Gorilla gorilla</i>	XM_004028271.2
	<i>Homo sapiens</i>	NM_000707.3
	<i>Macaca fascicularis</i>	NM_001287703.1
	<i>Macaca mulatta</i>	NM_001246222.1
	<i>Macaca nemestrina</i>	XM_011746878.1
	<i>Mandrillus leucophaeus</i>	XM_012001007.1
	<i>Nomascus leucogenys</i>	XM_003272950.3
	<i>Pan paniscus</i>	XM_003822930.3
	<i>Pan troglodytes</i>	XM_525039.5
	<i>Papio anubis</i>	XM_003893207.2
	<i>Pongo abelii</i>	XM_009238636.1
	<i>Rhinopithecus bieti</i>	XM_017880841.1
<i>Rhinopithecus roxellana</i>	XM_010362490.1	
Platyrrhini	<i>Alouatta guariba</i>	Presente trabalho
	<i>Aotus nancymaae</i>	XM_012459204.1
	<i>Brachyteles arachnoides</i>	Presente trabalho
	<i>Cacajao melanocephalus</i>	Presente trabalho

	<i>Callibella humilis</i>	Presente trabalho
	<i>Callicebus coimbrai</i>	Presente trabalho
	<i>Callimico goeldii</i>	Presente trabalho
	<i>Callithrix geoffroyi</i>	Presente trabalho
	<i>Callithrix jacchus</i>	XM_002760726.2
	<i>Cebuella pygmaea</i>	Presente trabalho
	<i>Chiropotes albinasus</i>	Presente trabalho
	<i>Chiropotes utahickae</i>	Presente trabalho
	<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	Presente trabalho
	<i>Leontopithecus rosalia</i>	Presente trabalho
	<i>Mico humeralifer</i>	Presente trabalho
	<i>Mico melanura</i>	Presente trabalho
	<i>Mico saterei</i>	Presente trabalho
	<i>Propithecus coquereli</i>	XM_012657858.1
	<i>Saguinus bicolor</i>	Presente trabalho
	<i>Saguinus martinsi</i>	Presente trabalho
	<i>Saguinus niger</i>	Presente trabalho
	<i>Saimiri boliviensis</i>	XM_003930448.2
	<i>Sapajus capucinus</i>	XM_017525482.1
	<i>Sapajus robustus</i>	Presente trabalho
	<i>Sapajus xanthosternos</i>	Presente trabalho
<b>Strepsirrhini</b>	<i>Microcebus murinus</i>	XM_012761001.1
	<i>Otolemur garnettii</i>	XM_003792217.1
	<i>Tarsius syrichta</i>	XM_008053930.1
<b>Dermoptera</b>	<i>Galeopterus variegatus</i>	XM_008573081.1
<b>Scandentia</b>	<i>Tupaia belangeri chinensis</i>	XM_006159267.1

## 5.2 Extração de DNA

A extração do DNA foi realizada mediante o DNeasy Blood & Tissue Kit<sup>®</sup> (Qiagen). Em um tubo de microcentrífuga (1,5 ml) foram pipetados proteinase K (20 µl), sangue anticoagulado (100 µl) e PBS para o ajuste do volume a 220 µl. Então, foram adicionados 200 µl de tampão AL e a solução foi submetida à mistura por agitador vórtex para posterior encubação a 56°C por 10 min. 200 µl de etanol 96% foram adicionados à amostra, novamente homogeneizada por vórtex. A solução resultante foi pipetada na coluna de centrifugação DNeasy, alocada em um tubo de 2 ml e centrifugada a 6000 g por 1 min; posteriormente, foram descartados o *flow-through* e o tubo. Em seguida, a coluna de centrifugação foi depositada em um novo tubo de 2 ml e, após a adição de tampão AW1 (500 µl), foi submetida à centrifugação

a 6000 g por 1 min, descartando-se o *flow-through* e o tubo posteriormente. A coluna de centrifugação foi novamente realocada para um tubo de 2 ml e tampão AW2 (500 µl) foi adicionado à amostra, outra vez centrifugada (20.000 g por 3 min) para secar a membrana DNeasy; em seguida, descartou-se o *flow-through* e o tubo. Então, a coluna de centrifugação foi colocada em um tubo de microcentrífuga (1,5 ml) e, após a pipetagem de tampão AE (200 µl) diretamente sobre a membrana DNeasy, a amostra foi encubada à temperatura ambiente durante 1 min e posteriormente centrifugada a 6000 g por 1 min para a eluição.

### 5.3 Amplificação e Purificação do DNA

Os *primers* de amplificação foram projetados para flanquear todos os éxons do gene *AVPR1b* em sua totalidade (Tabela 4). Para a confecção dos *primers*, foram utilizados os *softwares* FastPCR (KALENDAR et al., 2017) e Primer3 (UNTERGASSER et al., 2012).

**Tabela 4:** Pares de *primers* selecionados para a amplificação da região codificadora do gene *AVPR1b* das amostras de pNM.

	<i>Primer Forward (5' - 3')</i>	<i>Primer Reverse (3' - 5')</i>	<b>Produto (pb)</b>
Par 1	ATCCACACCCTCCCTCCATC	CATGTAGGTGGAGGCGAACA	416
Par 2	ACATCACCTTCCGCTTCCAG	ATGAAGACCTGAGGGAGGCT	229
Par 3	ACGGGTCTACCTYACCTGGA	CGGACCACATCTGGACACTG	229
Par 4	TCCATGCTTTTGGGCAACCT	CACTGAGGGTTAGGCTGAGG	229

A reação em cadeia da polimerase (PCR) para cada amostra foi conduzida pelo seguinte protocolo: 5 µL de HotStarTaq® Mastermix Qiagen, 1 µl de *Primer Forward*, 1 µl de *Primer Reverse*, 20 µl de água RNase-Free Qiagen e 1 µl de DNA. O programa desenvolvido em um termociclador TECHNE TC-512 compreende uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos de 00m30s a 94°C, 00m30s à temperatura ideal de anelamento de cada *primer*, extensão de 00m45s a 72°C, e posterior extensão final por 10 minutos a 72°C.

O sucesso da amplificação foi averiguado por eletroforese em gel de agarose a 2% contendo tampão Tris-Borato-EDTA (TBE) e corante GelRed™. A verificação do gel foi efetuada mediante um transiluminador de luz UV. Os produtos das amplificações foram purificados com as enzimas Exonuclease I e Shrimp Alkaline Phosphatase (GE Healthcare), conforme o protocolo recomendado pelo fabricante.



## 5.4 Sequenciamento

O sequenciamento foi realizado por empresa terceirizada, em uma plataforma Applied Biosystems™ 3730xl DNA Analyzer. A verificação da qualidade foi efetuada por meio do *software* CodonCode Aligner. Posteriormente, as sequências obtidas foram alinhadas às aquelas extraídas dos bancos de dados utilizando-se o algoritmo MUSCLE, conforme implementado no *software* MEGA 6.0 (TAMURA et al., 2013).

## 5.5 Análise de Dados

### 5.5.1 Predição de Motivos Lineares

Os Motivos Lineares Curtos (SLiM), pequenos trechos em sequências proteicas que medeiam interações proteína-proteína, foram preditos mediante o servidor *online Eukaryotic Linear Motif* (ELM; DINKEL et al., 2014). Disponível em <http://elm.eu.org/>.

### 5.5.2 Análises Evolutivas

Uma árvore filogenética foi elaborada a partir do servidor *TimeTree* ([www.timetree.org](http://www.timetree.org)). Esta árvore corresponde à filogenia disponível no projeto *10kTrees* (<http://10ktrees.fas.harvard.edu/Primates/>), bem como à filogenia proposta por PERELMAN et al., 2011, revisada por SCHNEIDER e SAMPAIO, 2015.

O pacote PAML 4.8 foi utilizado para avaliar o padrão evolutivo do gene *AVPR1b*. Este programa permite uma comparação interespecífica das taxas de substituição das sequências analisadas (entre códons ou aminoácidos; *NSsites*). A taxa de substituições não-sinônimas por substituições sinônimas (dN/dS ou  $\omega$ ) indica seleção negativa quando  $\omega < 1$ , seleção neutra ou relaxada quando  $\omega \cong 1$ , e seleção positiva quando  $\omega > 1$ . Para avaliar quanto à seleção natural, foi utilizada uma comparação em pares de testes da razão de verossimilhanças (LRTs) para os seguintes modelos PAML: neutro (M1a, M7 e M8a) *versus* modelos alternativos não-neutros (M2a e M8), ou seja, M1a *vs.* M2a, M7 *vs.* M8 e M8a *vs.* M8 (YANG, 1998, 2007). Alternativamente, para testar se a seleção positiva está atuando em linhagens específicas, foi utilizado o modelo *Branch-Site*, que permite à taxa  $\omega$  variar entre ramos de uma dada filogenia (YANG, 2007). O método PAML Bayes Empirical Bayes (BEB) foi utilizado para inferir sítios com uma alta probabilidade de estarem sob seleção positiva.

### 5.5.3 Associação Fenotípica

Os dados sobre características ecológicas e comportamentais de espécies de primatas do Novo Mundo foram compilados de dois recursos disponíveis publicamente: o banco de dados do Museu de Zoologia da Universidade de Michigan (MYERS et al., 2017, disponível em <http://animaldiversity.org/>) e o banco de dados *All the World's Primates* (ROWE e MYERS, 2017, disponível em <http://alltheworldsprimates.org>), bem como de informações pontuais da literatura.

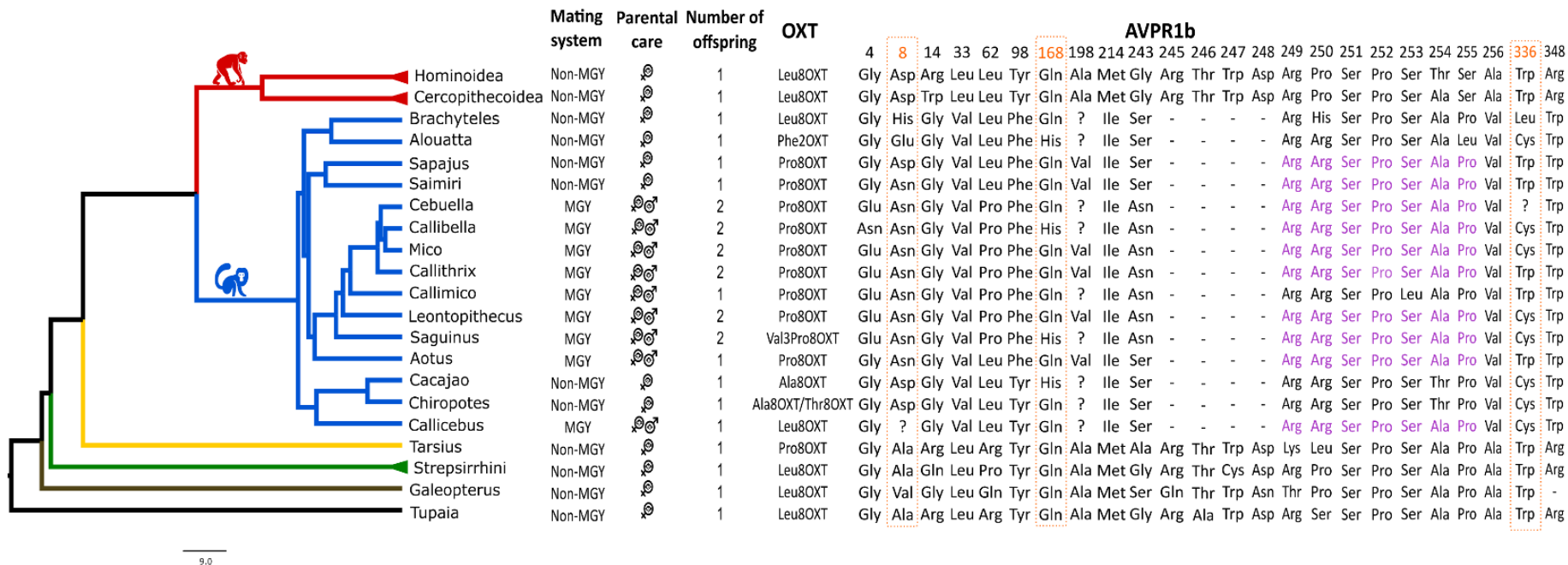
Para evitar associações espúrias devido a sinais filogenéticos sem relação causal com o fenótipo selecionado, as análises foram limitadas a traços com vínculo reconhecido aos genes do sistema OXT–AVP, a saber: 1) Sistema de acasalamento (monogamia como um único casal formado por mais de um período de acasalamento, compartilhando a mesma habitação, com ou sem prole, ou não monogamia); 2) Cuidados paternos diretos (contribuição paterna regular para atividades como transporte, alimentação, defesa e ensino, com um propósito claro de beneficiar a prole), ou sua ausência; 3) Número usual de prole por nascimento (1 ou 2), com base em uma correlação anterior entre o número de prole por nascimento e as formas de oxitocina dos pNM (VARGAS-PINILLA et al., 2015). É fundamental salientar que classificações comportamentais são generalizações baseadas em parâmetros passíveis de divergências. Entretanto, a abordagem adotada no presente trabalho, também aplicada em estudos anteriores (BABB et al, 2015; REN et al., 2014, 2015; VARGAS-PINILLA et al., 2015, 2016) emerge como um ponto de partida razoável para o esclarecimento do vínculo entre genótipos e fenótipos que caracterizam diferentes grupos taxonômicos sob investigação.

Testes clássicos de associação entre as sequências do gene *AVPR1b* e cada uma das características acima mencionadas foram realizados mediante o pacote *superwise* v0.1 para o ambiente R (*R Core Team*, 2017). Considerando-se as diferenças de natureza das diversas variáveis comportamentais e de histórias de vida utilizadas em nossos cálculos, o Teste Exato de Fisher foi aplicado para características qualitativas, e o Teste de Kruskal-Wallis para traços contínuos. Os valores de P foram corrigidos para testes múltiplos a partir da correção de Bonferroni.

## 6 RESULTADOS

A árvore filogenética (Figura 7) apresenta possíveis variantes de AVPR1b táxon-específicas de potencial relevância evolutiva. As análises envolvendo todos os gêneros de primatas, além de *Galeopterus* e *Tupaia*, indicam que os modelos evolutivos que permitem a seleção positiva, M2a e M8 (*NSsites*), constituem os mais adequados para explicar a variação observada em AVPR1b ( $p < 0.001$ ; Tabela 5). Nossos resultados indicam que 1 a 3% dos sítios do AVPR1b estão sob seleção positiva ( $\omega_2$  [M2a] = 3.66975 e  $\omega$  [M8] = 2.46606). O modelo mais conservador, M2a, revela que 20% dos sítios podem estar sob relaxamento da pressão seletiva ou neutralidade (equilíbrio entre mutação e deriva genética;  $\omega_1 = 1$ ), enquanto 79% estariam sob seleção purificadora ( $\omega_0 = 0.10485$ ). O teste Bayes Empirical Bayes (BEB) dos modelos M2a e M8 identificou um sítio, na posição 336 (TM7), com uma probabilidade de 99% de estar sob seleção positiva (Tabela 6). Para o M8, dois outros sítios têm uma alta probabilidade de estarem sob seleção positiva: posição 8 (97%), no domínio N-terminal, e posição 168 (98%), em TM4 (Tabela 6). Sete sítios conforme o modelo M2a, e 24 sítios segundo o modelo M8, apresentaram sinais de seleção positiva, embora a probabilidade destes sinais seja inferior a 95% (por exemplo, posições 302 e 303 em TM6 e 395 no domínio C-terminal; APÊNDICE A). O maior número de sítios com sinais moderadamente positivos foi encontrado no domínio N-terminal: 4 sítios para M2a e 14 sítios para M8a. Em síntese, encontramos sinais positivos nos domínios N-terminal, ICL1, TM4, ECL2, ICL3, TM6, ECL3, TM7 e C-terminal (APÊNDICE A).

O modelo *Branch-Site*, por sua vez, identificou seleção positiva específica no ramo dos pNM ( $\omega = 7.479$ ;  $p < 0.001$ ; Tabela 7). Posteriormente, o teste BEB indicou cinco sítios sob seleção positiva significativa. Dois deles foram previamente identificados pelo teste *NSsites* (posições 168 e 336, localizadas, respectivamente, em TM4 e TM7 do receptor AVPR1b), enquanto os três restantes apresentaram sinal positivo em *NSsites* (302, 303 e 395, localizados em TM6 e no domínio C-terminal, respectivamente), porém com probabilidade inferior a 95%. Onze sítios adicionais exibiram sinais positivos com probabilidade abaixo de 95% (APÊNDICE B). Em suma, nas análises restritas ao ramo dos primatas do Novo Mundo, foram observados sinais de seleção positiva nos domínios N-terminal, TM4, ECL2, TM5, TM6, ECL3, TM7 e C-terminal do AVPR1b (APÊNDICE B).



**Figura 7:** Variabilidade táxon-específica do AVPR1b de possível relevância evolutiva. Em azul, gêneros de Platyrrhini; em vermelho, as duas superfamílias de Catarrhini; em verde, a subordem de primatas Strepsirrhini; em amarelo, o gênero de primatas *Tarsius*; em marrom, o gênero *Galeopterus* da ordem Dermoptera; e em preto, o gênero *Tupaia*, ordem Scandentia. Sítios com uma alta probabilidade de estarem sob seleção positiva estão destacados em laranja. Os aminoácidos do motivo linear SH3 estão assinalados em roxo. “-” representa deleções e “?”, dados em falta.

**Tabela 5:** Parâmetros de máxima verossimilhança evolutiva (*NSsites*) estimados para o gene *AVPR1b* em primatas, *Tupaia* e *Galeopterus*.

Modelo	$\ell$	Parâmetros estimados	dN/dS	Valor <i>p</i>
M1: neutro	-7388.367193	$p_0 = 0.79047, p_1 = 0.20953$ $\omega_0 = 0.10138, \omega_1 = 1.00000$	0.2897	$p = 0.001$
M2a: seleção	-7381.961503	$p_0 = 0.78860, p_1 = 0.19730, p_2 = 0.01410$ $\omega_0 = 0.10485, \omega_1 = 1.00000, \omega_2 = 3.66975$	0.3317	
M7: beta	-7377.901491	$p = 0.31416, q = 0.91147$	0.2553	$p < 0.001$
M8a: beta	-7371.950323	$p_0 = 0.86670, (p_1 = 0.13330), p_2 = 0.52115$ $q = 2.96425, \omega = 1.00000$	0.2531	$p < 0.001$
M8: beta & $\omega$	-7364.931348	$p_0 = 0.96605, (p_1 = 0.03395), p_2 = 0.40567$ $q = 1.45197, \omega = 2.46606$	0.2924	

$p_0$  = proporção de sítios onde  $\omega < 1$ ;  $p_1$  = proporção de sítios onde  $\omega = 1$ ;  $p_2$  = proporção de sítios onde  $\omega > 1$  (apenas modelos de seleção);  $\omega_0 < 1$  (seleção negativa),  $\omega_1 = 1$  (seleção neutra),  $\omega_2 > 1$  (seleção positiva). Os testes da razão de verossimilhanças foram realizados entre modelos neutros (M1a – Aproximadamente Neutro e M7 – Beta) e modelos que identificam seleção positiva e/ou relaxamento de restrições funcionais (M2a – Seleção e M8 – Beta + Seleção). As comparações de M1a vs. M2a e M7 vs. M8 têm dois graus de liberdade ( $df = 2$ ). Parênteses indicam parâmetros fixos.

**Tabela 6:** Sítios do receptor AVPR1b com uma alta probabilidade de estarem sob seleção positiva na análise Bayes Empirical Bayes (modelos M2a e M8).

Modelo	Domínio	Posição do AA	Probabilidade
M2a	TM7	336	0.996
M8	N-terminal	8	0.969
	TM4	168	0.976
	TM7	336	0.998

**Tabela 7:** Resultados do modelo *Branch-Site* para os dados do AVPR1b. O ramo dos primatas do Novo Mundo (*Foreground branch*) é comparado a outros primatas e a espécies *outgroup* (*Background branch*).

<i>Branch-Site</i>			
<i>Site class</i>	0	1	2
Proporção	0.7856	0.1875	0.0269
<i>Background branch</i>	0.1022	1	0
<i>Foreground branch</i>	0.1022	1	7.4794

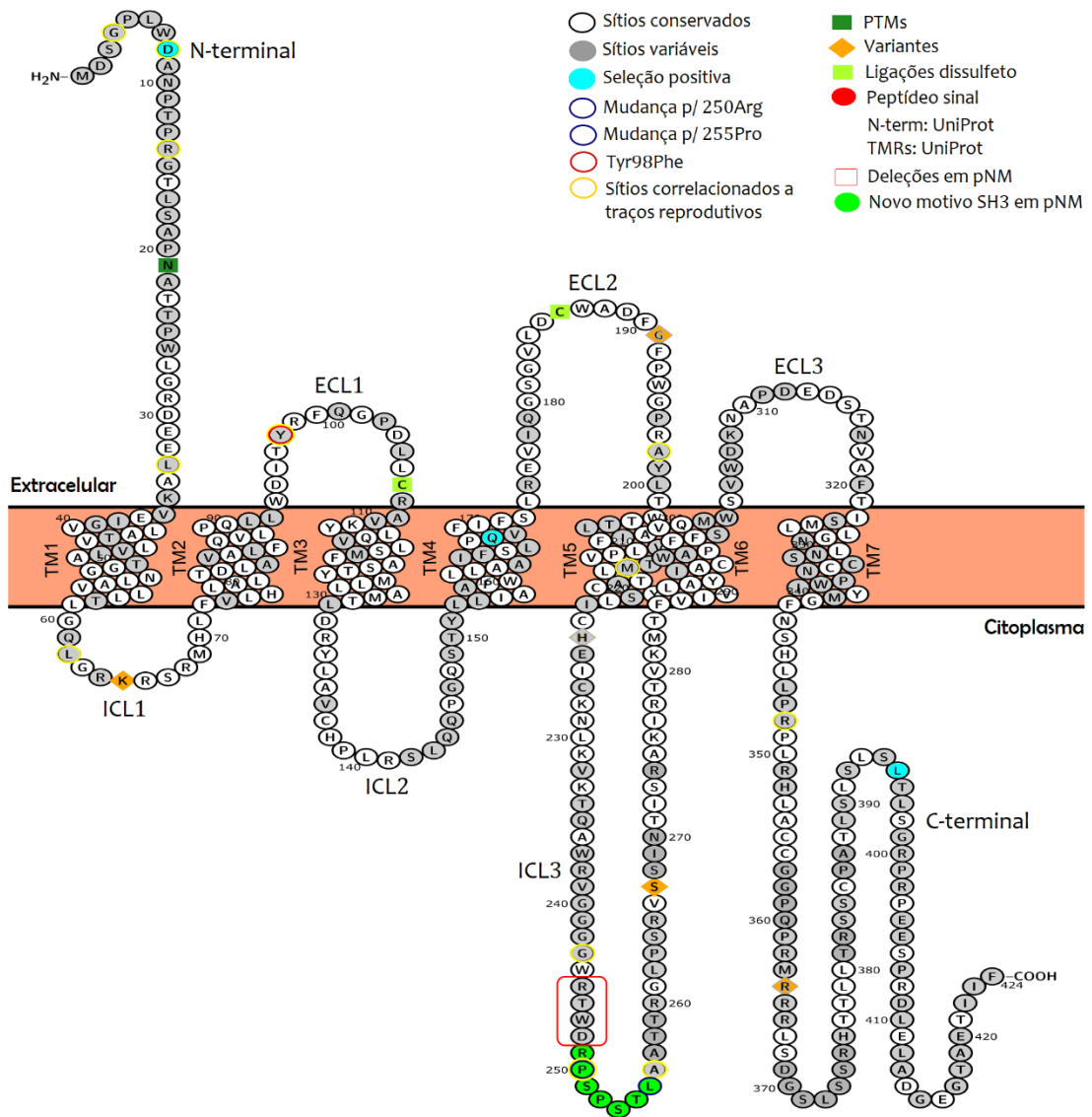
Aplicando o Teste Exato de Fisher e o Teste de Kruskal-Wallis (dependendo da varável testada), encontramos associações estatisticamente significativas entre variantes moleculares do AVPR1b e traços específicos de primatas do Novo Mundo (Tabela 8). Por exemplo, as variações nas posições 4, 62 e 243 foram significativamente associadas ao tipo de sistema de acasalamento, número da prole e cuidados paternos. Detectamos um sinal de seleção positiva, segundo o modelo *Branch-Sites*, na posição 4 ( $\omega = 7.479$ ; BEB = 73%), enquanto as posições 62 e 243 estão sob relaxamento da pressão seletiva ( $\omega = 1$ ; BEB > 90%). As posições 14, 256 ( $\omega = 1$ ; BEB > 97%) e a posição 250 ( $\omega = 1$ ; BEB > 86%) estão sob restrição seletiva relaxada, ao passo que o restante, exceto a posição 8, está sob seleção negativa. Convém destacar que na posição 98 do domínio ECL1, que está sob seleção negativa ( $\omega = 0.102$ ; BEB = 99%), todos os cebídeos e atelídeos investigados carregam uma fenilalanina, enquanto uma tirosina é encontrada nos Pitheciidae (Figura 7). As variações na posição 8 estão associadas com o tipo de sistema de acasalamento e com cuidados paternos (Tabela 8); este sítio está sob seleção positiva (NSsites [M8];  $\omega_{10} = 2.46606$ ; BEB = 97%).

Curiosamente, todas as sequências analisadas do AVPR1b nos primatas do Novo Mundo portam uma deleção entre as posições aminoacídicas 245 e 248 (Figuras 7, 8 e 9), na adjacência imediata de um motivo linear previsto (Arg-Arg-Ser-Pro-Ser-Ala-Pro) entre as posições 250 e 255 (Figuras 7, 8 e 9), que reconhece domínios SH3 (*Src homology 3*). Neste contexto, é importante salientar que o mico-de-goeldi (*Callimico goeldii*) difere dos demais pNM na medida em que porta uma leucina na posição 253, resultando na ausência do motivo supracitado. Os domínios SH3 e os sítios de ligação correspondentes foram descritos para centenas de proteínas; eles fornecem à célula um meio particularmente conveniente e adaptável de interações proteicas seletivas, que podem possuir relevante importância funcional (MAYER, 2001, 2015). A presença ou ausência da deleção e do motivo linear que interage com os domínios SH3 também foram consideradas nos testes de associação (vide Metodologia). Encontramos uma associação entre Del. 245-248 e o motivo linear adjacente com cuidados paternos diretos. Ademais, a presença do motivo linear está associada também ao tipo de sistema de acasalamento (Tabela 8).

**Tabela 8:** Testes de associação entre genótipo-fenótipo após a correção de Bonferroni.

	<b>Sistema de Acasalamento<sup>1</sup></b>	<b>Cuidado Parental<sup>2</sup></b>	<b>Número da Prole<sup>3</sup></b>
Presença da deleção	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa
Presença de SH3	$p < 0.001$	$P < 0.001$	Não significativa
4	$p < 0.001$	$P < 0.001$	$p < 0.001$
8	$p < 0.001$	$P < 0.001$	Não significativa
14	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa
33	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa
62	$p < 0.001$	$P < 0.001$	$p < 0.001$
98	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa
198	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa
214	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa
243	$p < 0.001$	$P < 0.001$	$p < 0.001$
250	$p < 0.001$	$P < 0.001$	Não significativa
256	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa
348	Não significativa	$P < 0.001$	Não significativa

<sup>1</sup>Sistema de acasalamento (monogamia como um único casal formado por mais de uma estação de acasalamento, compartilhando a mesma habitação, com ou sem prole, ou não monogamia); <sup>2</sup>Cuidado parental: cuidado materno ou materno e paterno (contribuição paterna regular para atividades como transporte, alimentação, defesa e ensino, com um propósito claro de beneficiar a prole, ou sua ausência); <sup>3</sup>Número usual de prole por nascimento (1 ou 2).



**Figura 8:** Snakeplot do receptor AVPR1b.



	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257
<i>Homo sapiens</i>	G	W	R	T	W	D	R	P	S	P	S	T	L	A	A
<i>Pan paniscus</i>	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.
<i>Pan troglodytes</i>	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.
<i>Pongo abelii</i>	.	.	.	.	.	H	.	.	.	.	.	.	S	V	.
<i>Gorilla gorilla</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.
<i>Papio anubis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Rhinopithecus bieti</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Rhinopithecus roxellana</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Mandrillus leucophaeus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Cercocebus atys</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Macaca fascicularis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Macaca mulatta</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Macaca nemestrina</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Colobus angolensis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Chlorocebus sabaeus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.	.
<i>Nomascus leucogenys</i>	.	.	.	.	.	N	.	S	.	.	.	A	S	V	.
<i>Cebuella pygmaea</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Callibella humilis</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Callithrix jacchus</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Callithrix geoffroyi</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Callimico goeldii</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	L	A	P	V	.
<i>Mico melanura</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Mico saterei</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Mico humeralifer</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Saguinus martinsi</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Saguinus bicolor</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Saguinus niger</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Leontopithecus rosalia</i>	N	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Aotus nancymae</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Saimiri boliviensis</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Sapajus capucinus</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Sapajus xanthosternos</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Sapajus robustus</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Brachyteles arachnoides</i>	S	.	-	-	-	-	.	H	.	.	.	A	P	V	.
<i>Alouatta guariba</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	.	V	.
<i>Cacajao melanocephalus</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	.	P	V	.
<i>Chiropotes albinasus</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	.	P	V	.
<i>Chiropotes utahickae</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	.	P	V	.
<i>Callicebus coimbrai</i>	S	.	-	-	-	-	.	R	.	.	.	A	P	V	.
<i>Tarsius syrichta</i>	A	.	.	.	.	.	K	L	.	.	.	A	P	.	.
<i>Microcebus murinus</i>	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	P	.	V
<i>Propithecus coquereli</i>	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	P	.	V
<i>Otolemur garnettii</i>	.	.	.	.	C	.	.	.	.	A	G	V	P	V	G
<i>Tupaia chinensis</i>	.	.	.	A	.	.	.	S	.	.	.	A	P	.	.
<i>Galeopterus variegatus</i>	S	.	Q	.	.	N	T	.	.	.	.	A	P	.	.

**Figura 9:** Alinhamento do AVPR1b ilustrando a deleção 245-248 e o novo motivo linear SH3 previsto (em vermelho). Os pontos representam aminoácidos idênticos à sequência de referência (*Homo sapiens*); as deleções estão representadas por um traço.

## 7 DISCUSSÃO

Os primatas do Novo Mundo experimentaram uma bem-sucedida radiação adaptativa a partir de sua emergência há 20-27 milhões de anos, a qual resultou na ocupação de uma vasta variedade de nichos ecológicos (PERELMAN, 2011). Como consequência, há uma grande variação morfológica e comportamental neste grupo. MOORJANI et al. (2016) revelou recentemente que as taxas evolutivas são elevadas nos Platyrrhini, possivelmente devido ao menor tempo de geração em relação aos grandes símios. Este padrão geral é corroborado por uma série de estudos genéticos; por exemplo, REN et al. (2014, 2015), BABB et al. (2015) e VARGAS-PINILLA et al (2015) relataram altas taxas evolutivas para OXTR e AVPR1a em platirrinos. No entanto, os padrões de variação podem diferir consideravelmente entre genes de receptores. Por exemplo, estudando um conjunto de espécies de pNM semelhantes às investigadas no presente estudo, VARGAS-PINILLA et al. (2015) constataram que 1% dos sítios de OXTR estavam sob seleção positiva, 8% apresentavam indícios de relaxamento seletivo e 91% estavam sob seleção purificadora. Para AVPR1b, por outro lado, os números correspondentes foram 1%, 20% e 79%. Em outras palavras, a proporção de sítios sob relaxamento da pressão seletiva é duas vezes maior no AVPR1b do que no OXTR. Dois cenários, não mutuamente exclusivos, podem explicar estas diferenças. O mais tradicional sugeriria que AVPR1b apresenta um maior número de regiões cuja restrição funcional teria reduzido durante a evolução dos pNM, levando à neutralidade. Entretanto, a partir de uma perspectiva menos convencional, as diferenças observadas podem indicar um maior potencial evolutivo do AVPR1b. A neutralidade condicional (ou pré-adaptativa) levaria a um conjunto de variantes naturais, cujo efeito fenotípico é pequeno ou ausente no contexto evolutivo, protegendo estas variantes contra o poder da seleção purificadora. No entanto, uma mudança nas circunstâncias evolutivas pode facilitar o surgimento de novos fenótipos adaptativos com base neste conjunto de variações previamente neutras. A neutralidade pré-adaptativa representa, portanto, o vínculo chave entre a deriva neutra e a seleção natural (RAMAN et al., 2016). Neste trabalho, encontramos associações entre as posições 243 e 256 do AVPR1b – ambas sob relaxamento da pressão seletiva – e cuidados paternos, e/ou tipo de sistema de acasalamento, e/ou número de prole por nascimento. Sugerimos, portanto, que estes alelos variantes foram seletivamente neutros no passado e apenas expressam suas vantagens de aptidão no contexto de eventos evolutivos mais recentes. Estas variantes seriam desse modo de importância

intermediária para o surgimento de características derivadas, tal como cuidados paternos em pNM.

Foram detectados sinais de seleção positiva em vários domínios da proteína AVPR1b, tanto para o clado dos primatas como um todo quanto para o ramo dos primatas do Novo Mundo. As posições 4 (N-terminal), 8 (N-terminal), 168 (TM4), 302 (TM6), 303 (TM6), 336 (TM7) e 395 (C-terminal) provavelmente estão sob seleção positiva, e pelo menos duas delas (4 e 8) estão associadas ao tipo de sistema de acasalamento, com presença de cuidados paternos e/ou número de prole por nascimento. Em outras palavras, os aminoácidos glutamina e asparagina parecem estar sob seleção para demandas evolutivas nos gêneros da subfamília Callithrichinae, um clado que é caracterizado principalmente por pares monogâmicos, cuidados paternos acentuados e gestações gemelares. Como esperado, os resultados também identificaram um grande número de sítios sob restrições evolutivas devido à seleção purificadora. Um deles requer comentários adicionais. Na posição 98 do AVPR1b (ECL1), todos os Cebidae portam uma fenilalanina, enquanto uma tirosina é encontrada na família Pitheciidae (Figura 7). Esta região do receptor é conhecida por interagir com a posição 8 do nonapeptídeo, que apresenta uma prolina (Pro) na família Cebidae. Na posição homóloga no OXTR, posição 103, os Cebidae também carregam uma fenilalanina, com exceção do macaco-de-cheiro, *Saimiri sciureus*, e da espécie de macaco-da-noite *Aotus nancymae*, ambos portadores de tirosina na posição 103 (BABB et al., 2015; VARGAS-PINILLA et al., 2015). Na posição homóloga no AVPR1a, posição 115, uma tirosina é encontrada entre os Cebidae (VARGAS-PINILLA et al., 2015; FRENCH et al., 2016). É fundamental mencionar que uma substituição artificial de tirosina para fenilalanina na posição 115 do AVPR1a, em células de rato, deslocou o perfil farmacológico deste receptor para o perfil do OXTR, ocasionando um aumento de afinidade de 17 vezes entre AVPR1a e a forma comum de OXT (Leu<sup>8</sup>OXT; CHINI et al., 1995). No presente trabalho, foi detectada uma associação entre a fenilalanina na posição 98 e a presença de cuidados paternos ( $p < 0.001$ ). Uma possível interpretação destes achados seria que, há ~20 milhões de anos, a seleção positiva teria levado à fixação de uma fenilalanina nesta posição nos Cebidae, que posteriormente fora mantida por seleção purificadora devido à sua relevância funcional nos contextos ecológicos e evolutivos específicos deste clado.

A presença da deleção 245-248 e do motivo de ligação SH3 também estão associados com cuidados paternos diretos. É possível que estes elementos genéticos tenham caracterizado o primeiro passo em uma cascata de eventos sucessivos que pode ter contribuído para a

emergência de novos fenótipos adaptativos nestes primatas. Convém notar que ambos os elementos genéticos também estão presentes em *Aotus*, um gênero caracterizado por gestações individuais, o que reforça a ideia de um substrato genético comum modulando o relacionamento entre pares, a monogamia social e traços relacionados ao cuidado paterno direto (FERNÁNDEZ-DUQUE et al., 2009). A ocorrência regular de nascimentos de gêmeos provavelmente surgiu mais tarde, em um ancestral dos Callithrichinae, quando as condições para a sobrevivência de dois descendentes estavam estabelecidas. Por outro lado, *Callimico goeldii*, a única espécie da subfamília Callithrichinae que corriqueiramente não produz gêmeos, não possui o motivo linear SH3, indicando uma provável reversão à condição ancestral ocasionada por uma substituição exclusiva de uma serina por uma leucina na posição 253 do AVPR1b. Curiosamente, um estudo sobre a protease WFIKKN, que parece desempenhar um papel na evolução da gemelaridade nos Callithrichinae, demonstrou que *Callimico goeldii* compartilha uma treonina ancestral na posição 307 desta protease com outros primatas cujo nascimento de gêmeos não ocorre de modo regular (HARRIS et al., 2014). Com base na posição filogenética de *C. goeldii* na árvore dos pNM (PERELMAN et al., 2011; SCHNEIDER e SAMPAIO, 2015), estes achados sugerem que as fêmeas desta espécie perderam a habilidade de gerar gêmeos, embora as razões evolutivas subjacentes a este traço permaneçam desconhecidas.

O gênero *Callicebus* (família Pitheciidae) possui tanto a deleção 245-248 quanto o motivo linear SH3, porém, ao contrário dos demais portadores destes elementos, dispõe da variante comum da oxitocina, Leu<sup>8</sup>OXT. As espécies de *Callicebus* são caracterizadas por monogamia social e cuidados paternos diretos, mas possuem gestações individuais. FERNÁNDEZ-DUQUE et al. (2009) sugeriram que dois eventos independentes promoveram o surgimento de cuidados paternos no clado Platyrrhini: um em um ancestral da família Cebidae, e outro em um ancestral do gênero *Callicebus*. Nossas descobertas reforçam esta ideia e indicam a relevância de certos elementos do repertório genético que são comuns aos cebídeos e a *Callicebus*, quanto à possibilidade de terem promovido a emergência de monogamia e cuidados paternos nestes clados. O caso do cuidado paterno ilustra como a mesma solução genética pode ser favorecida em diferentes táxons submetidos a pressões seletivas idênticas ou semelhantes, visto que mutações no mesmo gene representam a forma mais parcimoniosa ou mesmo única disponível para um fenótipo particular emergir (WOOD et al., 2005). Neste

cenário, o repertório genético para o surgimento da gemelaridade (uma característica derivada nos pNM) pode não estar disponível em *Callicebus*.

Por fim, o papel do AVPR1b na ativação do eixo HPA por meio da liberação de ACTH e modulação da biossíntese de glicocorticoides está bem estabelecido (KOSHIMIZU et al., 2012; STEVENSON e CALDWELL, 2012). Os efeitos deste receptor sobre os comportamentos sociais, dentre os quais a agressividade, a ansiedade e a interação entre mãe e prole têm sido estudados principalmente em roedores (WERSINGER et al., 2002; TANOUE et al., 2004; STEVENSON e CALDWELL, 2012). Convém mencionar que os comportamentos agressivos promovem a autodefesa e a defesa do território, da prole e do(a) parceiro(a), e, portanto, são altamente adaptativos. Estudos funcionais e farmacológicos do AVPR1b em roedores revelam que o comportamento agressivo apenas é sensibilizado em contextos sociais específicos, e não de modo global (WITCHEY et al., 2016). Os achados do presente estudo contextualizados àqueles descritos acima sugerem que os machos cuidadores podem ser relativamente tolerantes com bebês, incluindo a prole de outros machos, enquanto preservam o potencial agressivo crucial para uma reação apropriada a ataques e ameaças. Curiosamente, estudos de espécies de primatas demonstraram que a monogamia social e os cuidados paternos diretos reduzem o risco de mortalidade juvenil promovida por machos não relacionados (OPIE et al., 2013); isto pode simplesmente indicar maior proteção devido ao envolvimento de cuidadores masculinos, ou, alternativamente, pode designar níveis mais baixos de estresse e agressividade (e maior tolerância) nos machos, ao menos em um contexto evolutivo onde eles são necessários para aumentar as chances de sobrevivência da prole.

Os estudos funcionais supracitados concentraram-se em animais *knockout* ou nos efeitos de antagonistas do AVPR1b, e não em testes envolvendo modificações proteicas sítio-específicas. Como consequência, a relevância funcional das alterações no AVPR1b em primatas descritas neste trabalho permanece desconhecida. Ademais, estudos populacionais são necessários para confirmar a natureza táxon-específica dessas variações.

## **8 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Nossos resultados ilustram um momento evolutivo da história dos platirrinos em que certas variantes são rigorosamente mantidas devido a uma expressiva seleção purificadora, enquanto outras encontram-se sob pressões seletivas positivas. Ainda, um número significativo de sítios apresenta sinais de relaxamento da pressão seletiva, uma descoberta compatível com o modelo de neutralidade condicional/pré-adaptativa (RAMAN et al., 2016). Com base no notório papel do AVPR1b como mediador de agressividade, ansiedade e estresse, mediante a liberação de ACTH e modulação de importantes glicocorticoides, sugerimos que algumas das alterações deste receptor em primatas do Novo Mundo fazem parte de um repertório genético complexo que alicerçou a emergência de comportamentos vantajosos, como o cuidado paterno direto em espécies socialmente monogâmicas, também caracterizadas por tamanhos diminutos e gestações gemelares.

## **9 PARECER DE ÉTICA E AUTORIZAÇÕES**

O Laboratório de Evolução Humana e Molecular, sob a coordenação da Profa. Dra. Maria Cátira Bortolini, possui autorização para armazenamento de material biológico e para a realização de pesquisa científica de amostras oriundas de cativeiro e/ou centros de manejo (SISBIO número 27951-2). A Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS, em comunicação datada de 25/11/2014, liberou a utilização das referidas amostras de DNA para investigações científicas.

## 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERS, H.E. Species, sex and individual differences in the vasotocin/vasopressin system: relationship to neurochemical signaling in the social behavior neural network. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v. 36, p. 49-71, 2015.
- ARMSTRONG, W.E. Hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei. In: *The Rat Nervous System*. San Diego, CA: *Elsevier Academic*, p. 369-388, 2014.
- BABB, P. L.; FERNANDEZ-DUQUE, E.; SCHURR, T. G. Oxytocin receptor gene sequences in owl monkeys and other primates show remarkable interspecific regulatory and protein coding variation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 91, p. 160-177, 2015.
- BLANCHARD, R.J. et al. AVP V1b selective antagonist SSR149415 blocks aggressive behaviors in hamsters. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 80, p. 189-194, 2005.
- BOSCH, O.J; NEUMANN, I.D. Both oxytocin and vasopressin are mediators of maternal care and aggression in rodents: from central release to sites of action. *Hormones and Behavior*, v. 61, p. 293-303, 2012.
- BURMEISTER, M.; MCINNIS, M.G.; ZÖLLNER, S. Psychiatric genetics: progress amid controversy. *Nature Reviews Genetics*, v. 9, p. 527-540, 2008.
- CALDWELL, H.K. et al. Social dominance in male vasopressin 1b receptor knockout mice. *Hormones and Behavior*, v. 58, p. 257-263, 2010.
- CALDWELL, H.K.; YOUNG, W.S. 3rd. Persistence of reduced aggression in vasopressin 1b receptor knockout mice on a more “wild” background. *Physiology & Behavior*, v. 97, p. 131-134, 2009.
- CAMPBELL, A. Oxytocin and human social behavior. *Personality and Social Psychology Review*, v. 14, p. 281-295, 2010.
- CARTER, C.S. et al. Oxytocin, vasopressin and sociality. *Progress in Brain Research*, v. 170, p. 331-336, 2008.
- CHINI, B. et al. Tyr115 is the key residue for determining agonist selectivity in the V1a vasopressin receptor. *The EMBO Journal*, v. 14, p. 2176-2182, 1995.
- CIOCHAN, L. R.; FLEAGLE, J. G. Primate Evolution and Human Origins. *Routledge*. 1988.
- CLEVELAND, J.; SNOWDON, C. T. Social development during the first twenty weeks in the cotton-top tamarin (*Saguinus o. oedipus*). *Animal Behaviour*, v. 32, p. 432-444, 1984.
- DEVITO, L.M. et al. Vasopressin 1b receptor knock-out impairs memory for temporal order. *Journal of Neuroscience*, v. 29, p. 2676-2683, 2009.

DI FIORE, A.; RENDALL, D. Evolution of social organization: A reappraisal for primates by using phylogenetic methods. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 91, p. 9941-9945, 1994.

DÍAZ-MUÑOZ, S. L. Complex cooperative breeders: Using infant care costs to explain variability in callitrichine social and reproductive behavior. *American Journal of Primatology*, v. 78, p. 372-387, 2016.

DINKEL, H. et al. The eukaryotic linear motif resource ELM: 10 years and counting. *Nucleic Acids Research*, v. 42, p. 59-266, 2014.

DONALDSON, Z.R.; YOUNG, L.J. Oxytocin, Vasopressin, and the Neurogenetics of Sociality. *Science*, v. 322, p. 900-904, 2008.

FERNÁNDEZ-DUQUE, E.; VALEGGIA, C. R.; MENDOZA, S. P. The biology of paternal care in human and nonhuman primates. *Annual Review of Anthropology*, v. 38, p. 115-130, 2009.

FLEAGLE, J.G. Primate Adaptation and Evolution, 3rd ed. *San Diego: Academic Press*, 2013.

FRENCH, J.A. et al. Neuropeptide diversity and the regulation of social behavior in New World primates. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v. 42, p. 18-39, 2016.

GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiological Reviews*, v. 81, p. 629-683, 2001.

GOODSON, J.L. Nonapeptides and the evolutionary patterning of sociality. *Progress in Brain Research*, v. 170, p. 3-15, 2008.

GRIEBEL, G. et al. Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 99, p. 6370-6375, 2002.

GRUBER, C.W. Physiology of invertebrate oxytocin and vasopressin neuropeptides. *Experimental Physiology*, v. 99, p. 55-61, 2014.

HAMMOCK, E.A.D.; YOUNG, L.J. Microsatellite instability generates diversity in brain and sociobehavioral traits. *Science*, v. 308, p. 1630-1634, 2005.

HARRIS, R. A. et al. Evolutionary genetics and implications of small size and twinning in callitrichine primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 111, p. 1467-1472, 2014.

HERNANDO, F. et al. Immunohistochemical localization of the vasopressin V1b receptor in the rat brain and pituitary gland: anatomical support for its involvement in the central effects of vasopressin. *Endocrinology*, v. 142, p. 1659-1668, 2001.



- HERSHKOVITZ, P. Living New World Monkeys (Platyrrhini). *University of Chicago Press*. 1978.
- INSEL, T. R.; WANG, Z. X.; FERRIS, C. F. Patterns of brain vasopressin receptor distribution associated with social organization in microtine rodents. *Journal of Neuroscience*, v. 14, p. 5381-5392, 1994.
- INSEL, T.R. The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin and affiliative behavior. *Neuron*, v. 65, 768-769, 2010.
- KALENDAR, R.; KHASSENOV, B.; RAMANKULOV, Y.; SAMUILOVA, O.; IVANOV, K. I. FastPCR: an *in silico* tool for fast primer and probe design and advanced sequence analysis. *Genomics*, v. 109, p. 312-319, 2017.
- KLEIMAN, D.G.; MALCOLM, J.R. The evolution of male parental investment in mammals. In: *Parental Care in Mammals*. New York: *Plenum Press*, p. 347-387, 1981.
- KOEHBACH, J. et al. Insights into the molecular evolution of oxytocin receptor ligand binding. *Biochemical Society Transactions*, v. 41, p. 197-204, 2013.
- KOSHIMIZU, T.A. et al. Vasopressin V1a and V1b receptors: from molecules to physiological systems. *Physiological Reviews*, v. 92, p. 1813-1864, 2012.
- LEE, A.G. et al. A novel form of oxytocin in New World monkeys. *Biology Letters*, v. 7, p. 584-587, 2011.
- LEE, H.J. et al. Oxytocin: the great facilitator of life. *Progress in Neurobiology*, v. 88, p. 127-151, 2009.
- LIM, M. M. et al. Enhanced partner preference in a promiscuous species by manipulating the expression of a single gene. *Nature*, v. 429, p. 754-757, 2004.
- LITVIN, Y.; MURAKAMI, G.; PFAFF, D.W. Effects of chronic social defeat on behavioral and neural correlates of sociality: Vasopressin, oxytocin and the vasopressinergic V1b receptor. *Physiology & Behavior*, v. 103, p. 393-403, 2011.
- LUKAS, D.; CLUTTON-BROCK, T.H. The evolution of social monogamy in mammals. *Science*, v. 341, p. 526-530, 2013.
- MAYER, B. J. SH3 domains: Complexity in moderation. *Journal of Cell Science*, v. 114, p. 1253-1263, 2001.
- MAYER, B. J. The discovery of modular binding domains: building blocks of cell signaling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 16, p. 691-698, 2015.
- MARKOV, G.V. et al. The evolution of the ligand/receptor couple: a long road from comparative endocrinology to comparative genomics. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 293, p. 5-16, 2008.

MOORJANI, P.; AMORIM, C. E. G.; ARNDT, P. F.; PRZEWORSKI, M. Variation in the molecular clock of primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 113, p. 10607-10612, 2016.

MYERS, P.; ESPINOSA, R.; PARR, C. S.; JONES, T.; HAMMOND, G. S.; DEWEY T. A. The Animal Diversity Web (*online*). 2017.

NEWMAN, S.W. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 877, p. 242-257, 1999.

NUNES, S.; FITE, J. E.; PATERA, K. J.; FRENCH, J. A. Interactions among paternal behavior, steroid hormones, and parental experience in male marmosets (*Callithrix kuhlii*). *Hormones and Behavior*, v. 39, p. 70-82, 2001.

OPIE, C.; ATKINSON, Q. D.; DUNBAR, R. I. M.; SHULTZ, S. Male infanticide leads to social monogamy in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 110, p. 13328-13332, 2013.

PARREIRAS-E-SILVA, L. T. et al. Functional New World monkey oxytocin forms elicit an altered signaling profile and promotes parental care in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 114, p. 9044-9049, 2017.

PERELMAN, P. et al. A Molecular Phylogeny of Living Primates. *PLoS Genetics*, v. 7, e1001342, 2011.

PLAVCAN, J. M. Sexual dimorphism in primate evolution. *American Journal of Physical Anthropology*, v. 116, p. 25-53, 2001.

POZZI, L.; HODGSON, J. A., BURRELL, A. S., STERNER, K. N., RAAUM, R. L., DISOTELL, T. R. Primate phylogenetic relationships and divergence dates inferred from complete mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 75, p. 165-83. 2014.

R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. 2017. Disponível em <http://www.r-project.org>.

RAMAN, A. S.; WHITE, K. I.; RANGANATHAN, R. Origins of Allosterity and Evolvability in Proteins: A Case Study. *Cell*, v. 166, p. 468-481, 2016.

REN, D. et al. Genetic diversity in oxytocin ligands and receptors in New World monkeys. *PLoS One*, v. 10, e0125775, 2015.

REN, D.; CHIN, K.R.; FRENCH, J.A. Molecular variation in AVP and AVPR1a in New World monkeys (Primates, Platyrrhini): evolution and implications for social monogamy. *PLoS One*, v. 9, e111638, 2014.

- RENDALL, D.; DI FIORE, A. Homoplasy, homology, and the perceived special status of behavior in evolution. *Journal of Human Evolution*, v. 52, p. 504-521, 2007.
- ROBINSON, G.E.; GROZINGER, C.M.; WHITFIELD, C.W. Sociogenomics: social life in molecular terms. *Nature Reviews Genetics*, v. 6, p. 257-270, 2005.
- ROSENBAUM, D. M.; RASMUSSEN, S. G. F.; KOBILKA, B. K. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature*, v. 459, p. 356-363, 2009.
- RYLANDS, A.B.; COIMBRA-FILHO, A.F.; MITTERMEIER, R.A. The Systematics and Distribution of the Marmosets (*Callithrix*, *Calibella*, *Cebuella*, and *Mico*) and *Callimico* (*Callimico*) (*Callitrichidae*, *Primates*). In: *The Smallest Anthropoids: The Marmoset/Callimico Radiation*. New York: *Springer*, p. 25-63, 2009.
- ROWE, R.; MYERS, M. All the World's Primates. [www.alltheworldsprimates.org](http://www.alltheworldsprimates.org). Primate Conservation Inc., acessado em 18 de Julho de 2017.
- SALTZMAN, W.; MAESTRIPIERI, D. The neuroendocrinology of primate maternal behavior. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biology Psychiatry*, v. 35, p. 1192-1204, 2011.
- SELLERS, B. Primate Evolution. *University of Edinburgh*, 2000.
- SCHNEIDER, H; SAMPAIO, I. The systematics and evolution of New World primates – A review. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 82, p. 348-357, 2015.
- STEVENSON, E. L.; CALDWELL, H. K. The vasopressin 1b receptor and the neural regulation of social behavior. *Hormones and Behavior*, v. 61, p. 277-282, 2012.
- STOOP, R. Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron*, v. 76, p. 142-159, 2012.
- STOOP, R. Neuromodulation by oxytocin and vasopressin in the central nervous system as a basis for their rapid behavioral effects. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 29, p. 187-193, 2014.
- STOREY, A. E.; ZIEGLER, T. E. Primate paternal care: interactions between biology and social experience. *Hormones and Behavior*, v. 77, p. 260-271, 2016.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, p. 2725-2729, 2013.
- TANOUE et al. The vasopressina V1b receptor critically regulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity under both stress and resting conditions. *Journal of Clinical Investigation*, v. 113, p. 302-309, 2004.
- UNTERGASSER, A. et al. Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, v. 40, e115, 2012.

- VARGAS-PINILLA, P. et al. Evolutionary pattern in the OXT-OXTR system in primates: coevolution and positive selection footprints. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 112, p. 88-93, 2015.
- VARGAS-PINILLA, P. et al. Progesterone response element variation in the OXTR promoter region and paternal care in New World monkeys. *Behavior Genetics*, v. 47, p. 77-87, 2016.
- WAITE, G.N.; GEIB, R.W.; KING, M.W. Neuropeptides as biological system integrators: mini review. *Biomedical Sciences Instrumentation* v. 50, p. 1-11, 2014.
- WERSINGER, S.R. et al. Vasopressin V1b receptor knockout reduces aggressive behavior in male mice. *Molecular Psychiatry*, v. 7, p. 975-984, 2002.
- WERSINGER, S.R. et al. Social motivation is reduced in vasopressin 1b receptor null mice despite normal performance in an olfactory discrimination task. *Hormones and Behavior*, v. 46, p. 638-645, 2004.
- WERSINGER, S.R. et al. Disruption of the vasopressin 1b receptor gene impairs the attack component of aggressive behavior in mice. *Genes, Brain and Behavior*, v. 6, p. 653-660, 2007.
- WERSINGER, S.R. et al. Inactivation of the oxytocin and the vasopressin (Avp) 1b receptor genes, but not the Avp 1a receptor gene, differentially impairs the Bruce effect in laboratory mice (*Mus musculus*). *Endocrinology*, v. 149, p. 116-121, 2008.
- WHITTEN, P. L.; BROCKMAN, D. K. "Chapter 14: Strepsirrhine reproductive ecology". In ELLISON, P. T. Reproductive Ecology and Human Evolution. *Transaction Publishers*. p. 321-350, 2001.
- WILSON, D. E.; REEDER, D. M. Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference (3rd ed.). Baltimore: *Johns Hopkins University Press*, v. 2, p.142, 2005.
- WITCHEY, S. K.; STEVENSON, E. L.; CALDWELL, H. K. Genotyping differences in intruder-evoked immediate early gene activation in male, but not in female, vasopressin 1b receptor knockout mice. *BCM Neuroscience*, v. 17, p. 75, 2016.
- WOOD, T. E.; BURKE, J. M.; RIESEBERG, L. H. Parallel genotyping adaptation: when evolution repeats itself. *Genetica*, v. 123, p. 157-170, 2005.
- WYNNE-EDWARDS, K. E. Hormonal Changes in Mammalian Fathers. *Hormones and Behavior*, v. 40, p. 139-145, 2001.
- YANG, H.P. et al. Nonsocial Functions of Hypothalamic Oxytocin. *ISRN Neuroscience*, v. 2013, 179272, 2013.
- YANG, M. et al. Social approach behaviors are similar on conventional versus reverse lighting cycles, and in replications across cohorts, in BTBR T+ tf/J, C57BL/6J, and vasopressin receptor 1B mutant mice. *Frontiers in Behavior Neuroscience*, v. 1, p. 1-9, 2007.

YANG, Z. Likelihood ratio tests for detecting positive selection and application to primate lysozyme evolution. *Molecular Biology and Evolution*, v. 15, p. 568-573, 1998.

YANG, Z. PAML 4: a program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Molecular Biology and Evolution*, v. 24, p. 1586-1591, 2007.

ZHANG, J. Rates of conservative and radical nonsynonymous nucleotide substitutions in mammalian nuclear genes. *Journal of Molecular Evolution*, v. 50, p. 56-68, 2000.

## APÊNDICE A – Resultados do teste *NSsites* para o AVPR1b (Análise BEB)

		<i>NSsites</i>																		
		M2a					M8													
N-TERMINAL	AA	$\omega_0$	$\omega_1$	$\omega_2$	$\omega$	AA	N	$\omega_0$	$\omega_1$	$\omega_2$	$\omega_3$	$\omega_4$	$\omega_5$	$\omega_6$	$\omega_7$	$\omega_8$	$\omega_9$	$\omega_{10}$		
	1	M	0,996	0,004	0	0,105	M	1	0,5897	0,1981	0,1061	0,0543	0,0271	0,0133	0,0064	0,003	0,0014	0,0006	1E-05	0,0004
	2	D	0,829	0,166	0,004	0,105	D	2	0,2566	0,1461	0,1322	0,1139	0,095	0,0774	0,0616	0,0478	0,0354	0,0227	0,0114	0,0004
	3	S	0,076	0,769	0,156	1	S	3	0,0025	0,0129	0,033	0,0565	0,079	0,0975	0,1098	0,1147	0,1103	0,0885	0,2955	0,0004
	4	G	0,42	0,575	0,005	1	G	4	0,0136	0,0545	0,1074	0,1423	0,1544	0,1482	0,1302	0,1063	0,0802	0,0508	0,0122	0,0906
	5	P	0,393	0,566	0,042	1	P	5	0,0354	0,061	0,0927	0,1126	0,1217	0,1221	0,1158	0,1042	0,0881	0,0631	0,0834	0,1516
	6	L	0,706	0,291	0,003	0,105	L	6	0,0768	0,1116	0,1438	0,1485	0,1369	0,1174	0,0953	0,0737	0,0537	0,0333	0,009	0,0481
	7	W	8E-04	0,713	0,286	1	W	7	0	0,0002	0,0018	0,0072	0,0185	0,0357	0,0571	0,0788	0,0951	0,0922	0,6135	2,4661
	8	D	1E-05	0,086	0,914	3,67	D	8	0	0	2E-05	0,0002	0,0006	0,0015	0,0032	0,0058	0,0089	0,0108	0,9691	2,4661
	9	A	0,906	0,093	8E-05	0,105	A	9	0,0519	0,1467	0,206	0,1954	0,1526	0,1059	0,0677	0,0404	0,0225	0,0106	0,0004	0,0208
	10	N	0,364	0,634	0,002	1	N	10	0,0041	0,0388	0,1021	0,1523	0,1717	0,1633	0,1381	0,1065	0,0748	0,0436	0,0048	0,0906
	11	P	0,911	0,089	8E-05	0,105	P	11	0,0544	0,1508	0,2082	0,1949	0,1506	0,1037	0,0659	0,0392	0,0218	0,0103	0,0004	0,0208
	12	T	0,983	0,017	1E-05	0,105	T	12	0,2455	0,234	0,1993	0,1369	0,0844	0,0487	0,0268	0,0142	0,0071	0,0031	7E-05	0,0004
	13	P	0,231	0,738	0,031	1	P	13	0,0079	0,0346	0,0748	0,1093	0,1313	0,1399	0,1369	0,1247	0,1052	0,0743	0,0611	0,1516
	14	R	0,003	0,817	0,18	1	R	14	1E-05	0,0007	0,0047	0,0154	0,0342	0,0594	0,087	0,1114	0,1257	0,1144	0,4473	2,4661
	15	G	0,994	0,006	0	0,105	G	15	0,5537	0,1996	0,1148	0,0631	0,0338	0,0178	0,0092	0,0047	0,0023	0,001	2E-05	0,0004
	16	T	1	4E-04	0	0,105	T	16	0,8658	0,0914	0,0276	0,0095	0,0035	0,0013	0,0005	0,0002	8E-05	3E-05	0	0,0004
	17	L	0,998	0,002	0	0,105	L	17	0,6229	0,1936	0,0966	0,0465	0,022	0,0103	0,0048	0,0022	0,001	0,0004	1E-05	0,0004
	18	S	0,775	0,216	0,009	0,105	S	18	0,2257	0,134	0,1264	0,1134	0,0985	0,0835	0,0692	0,0557	0,043	0,0286	0,0221	0,0004
	19	A	0,651	0,349	5E-04	0,105	A	19	0,008	0,0656	0,1478	0,1896	0,1841	0,1511	0,1106	0,0739	0,0452	0,023	0,0011	0,0481
	20	P	0,912	0,088	8E-05	0,105	P	20	0,0542	0,1506	0,2083	0,1951	0,1508	0,1038	0,0659	0,0392	0,0217	0,0102	0,0003	0,0208
	21	N	0,969	0,03	3E-04	0,105	N	21	0,6759	0,1298	0,071	0,0439	0,0286	0,0192	0,013	0,0088	0,0058	0,0033	0,0008	0,0004
	22	A	0,997	0,003	0	0,105	A	22	0,6012	0,1967	0,1029	0,0516	0,0253	0,0122	0,0058	0,0027	0,0012	0,0005	1E-05	0,0004
	23	T	0,967	0,033	5E-04	0,105	T	23	0,6728	0,1295	0,0711	0,0442	0,0291	0,0197	0,0135	0,0092	0,0062	0,0036	0,0012	0,0004
	24	T	0,759	0,229	0,012	0,105	T	24	0,217	0,1301	0,1241	0,1125	0,0988	0,0847	0,071	0,0579	0,0452	0,0304	0,0285	0,0004
25	P	0,985	0,015	1E-05	0,105	P	25	0,2553	0,2383	0,1989	0,1339	0,081	0,0459	0,0248	0,0129	0,0063	0,0027	6E-05	0,0004	

TM1	26	W	0,953	0,047	2E-04	0,105	TM1	W	26	0,3864	0,1837	0,139	0,1001	0,0699	0,0477	0,0319	0,0207	0,0129	0,007	0,0007	0,0004
	27	L	0,993	0,007	1E-05	0,105		L	27	0,7664	0,1203	0,0539	0,0274	0,0147	0,0081	0,0046	0,0026	0,0014	0,0007	4E-05	0,0004
	28	G	0,999	0,001	0	0,105		G	28	0,8327	0,104	0,037	0,015	0,0064	0,0028	0,0013	0,0006	0,0003	0,0001	0	0,0004
	29	R	0,994	0,006	1E-05	0,105		R	29	0,7757	0,1184	0,0516	0,0256	0,0134	0,0073	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	4E-05	0,0004
	30	D	0,968	0,031	4E-04	0,105		D	30	0,673	0,1299	0,0714	0,0444	0,0291	0,0196	0,0133	0,009	0,006	0,0035	0,0009	0,0004
	31	E	0,996	0,004	0	0,105		E	31	0,7924	0,1153	0,0477	0,0224	0,0111	0,0057	0,0029	0,0015	0,0008	0,0003	1E-05	0,0004
	32	E	0,996	0,004	0	0,105		E	32	0,7919	0,1154	0,0478	0,0225	0,0112	0,0057	0,0029	0,0015	0,0008	0,0003	1E-05	0,0004
	33	L	0,975	0,025	5E-05	0,105		L	33	0,4468	0,1932	0,1334	0,0879	0,0564	0,0355	0,0219	0,0132	0,0077	0,0039	0,0003	0,0004
	34	A	1	2E-04	0	0,105		A	34	0,8743	0,0877	0,0252	0,0083	0,0029	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
	35	K	0,974	0,026	5E-05	0,105		K	35	0,4395	0,193	0,1348	0,0897	0,058	0,0366	0,0227	0,0137	0,0079	0,004	0,0002	0,0004
	36	V	0,989	0,011	1E-05	0,105		V	36	0,5155	0,1992	0,1228	0,0724	0,0415	0,0234	0,0129	0,007	0,0037	0,0017	6E-05	0,0004
	37	E	0,996	0,004	0	0,105		E	37	0,7913	0,1155	0,048	0,0226	0,0112	0,0058	0,003	0,0015	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004
	38	I	0,999	0,001	0	0,105		I	38	0,6539	0,1894	0,0878	0,0392	0,0171	0,0074	0,0032	0,0013	0,0005	0,0002	0	0,0004
	39	G	0,187	0,602	0,211	1		G	39	0,0153	0,0293	0,0494	0,0665	0,0795	0,0882	0,0924	0,0919	0,0857	0,0677	0,3343	2,4661
	40	V	1	2E-04	0	0,105		V	40	0,8753	0,0872	0,0249	0,0081	0,0028	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
	41	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	41	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	42	A	1	3E-04	0	0,105		A	42	0,8702	0,0896	0,0264	0,0089	0,0032	0,0012	0,0005	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
	43	T	0,528	0,456	0,016	0,105		T	43	0,0506	0,0811	0,1152	0,1308	0,1325	0,1246	0,111	0,094	0,0748	0,0506	0,0349	0,0906
	44	V	1	2E-04	0	0,105		V	44	0,8773	0,0863	0,0243	0,0079	0,0027	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
	45	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	45	0,7716	0,1193	0,0526	0,0264	0,014	0,0076	0,0042	0,0023	0,0013	0,0006	4E-05	0,0004
	46	V	0,599	0,399	0,002	0,105		V	46	0,021	0,076	0,1358	0,1637	0,162	0,1421	0,1144	0,0858	0,0596	0,0349	0,0047	0,0481
	47	L	0,803	0,196	0,001	0,105		L	47	0,0978	0,1331	0,1608	0,1556	0,1344	0,108	0,0823	0,0597	0,0408	0,0238	0,0038	0,0208
	48	A	1	3E-04	0	0,105		A	48	0,8733	0,0882	0,0255	0,0084	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
	49	T	0,974	0,026	5E-05	0,105		T	49	0,4418	0,193	0,1343	0,0891	0,0575	0,0363	0,0225	0,0136	0,0079	0,004	0,0003	0,0004
	50	G	0,995	0,005	1E-05	0,105		G	50	0,776	0,1187	0,0517	0,0255	0,0133	0,0071	0,0039	0,0021	0,0011	0,0005	2E-05	0,0004
	51	G	0,999	9E-04	0	0,105		G	51	0,8401	0,1014	0,0349	0,0137	0,0057	0,0024	0,0011	0,0005	0,0002	8E-05	0	0,0004
	52	N	0,999	8E-04	0	0,105		N	52	0,8437	0,1002	0,0339	0,013	0,0053	0,0022	0,001	0,0004	0,0002	6E-05	0	0,0004
	53	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	53	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
54	A	0,99	0,01	4E-05	0,105	A	54	0,7509	0,1223	0,057	0,0303	0,0171	0,0099	0,0059	0,0035	0,002	0,001	0,0001	0,0004		
55	V	0,998	0,002	0	0,105	V	55	0,8226	0,1071	0,0398	0,0168	0,0075	0,0035	0,0016	0,0008	0,0004	0,0001	0	0,0004		
56	L	0,995	0,005	1E-05	0,105	L	56	0,781	0,1174	0,0504	0,0246	0,0127	0,0068	0,0037	0,002	0,0011	0,0005	3E-05	0,0004		
57	L	0,986	0,014	8E-05	0,105	L	57	0,7294	0,1254	0,0616	0,0343	0,0202	0,0123	0,0076	0,0047	0,0028	0,0015	0,0002	0,0004		

ICL1	58	T	0,984	0,016	1E-05	0,105	ICL1	T	58	0,25	0,2362	0,1994	0,1356	0,0828	0,0473	0,0258	0,0134	0,0067	0,0028	6E-05	0,0004
	59	L	0,993	0,007	1E-05	0,105		L	59	0,7651	0,1206	0,0542	0,0276	0,0149	0,0083	0,0046	0,0026	0,0014	0,0007	4E-05	0,0004
	60	G	0,999	9E-04	0	0,105		G	60	0,8419	0,1008	0,0344	0,0134	0,0055	0,0024	0,001	0,0004	0,0002	7E-05	0	0,0004
	61	Q	0,967	0,033	8E-05	0,105		Q	61	0,4176	0,1895	0,1369	0,0942	0,0629	0,0411	0,0263	0,0164	0,0098	0,0051	0,0004	0,0004
	62	L	0,001	0,777	0,221	1		L	62	0	0,0003	0,0028	0,0108	0,0262	0,0485	0,0742	0,0983	0,114	0,1062	0,5187	2,4661
	63	G	0,999	9E-04	0	0,105		G	63	0,8421	0,1007	0,0343	0,0133	0,0055	0,0023	0,001	0,0004	0,0002	7E-05	0	0,0004
	64	R	0,994	0,006	0	0,105		R	64	0,5527	0,1994	0,1149	0,0634	0,0341	0,018	0,0094	0,0048	0,0024	0,001	3E-05	0,0004
	65	K	0,996	0,004	0	0,105		K	65	0,7897	0,1159	0,0484	0,0229	0,0114	0,0059	0,0031	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004
	66	R	0,999	9E-04	0	0,105		R	66	0,8429	0,1003	0,0341	0,0132	0,0054	0,0023	0,001	0,0004	0,0002	7E-05	0	0,0004
	67	S	1	4E-04	0	0,105		S	67	0,8603	0,0939	0,0292	0,0103	0,0039	0,0015	0,0006	0,0002	9E-05	3E-05	0	0,0004
	68	R	0,999	8E-04	0	0,105		R	68	0,8433	0,1002	0,034	0,0131	0,0054	0,0023	0,001	0,0004	0,0002	7E-05	0	0,0004
	69	M	0,999	5E-04	0	0,105		M	69	0,8552	0,0959	0,0307	0,0112	0,0043	0,0017	0,0007	0,0003	0,0001	4E-05	0	0,0004
	70	H	0,999	5E-04	0	0,105		H	70	0,855	0,096	0,0307	0,0112	0,0043	0,0017	0,0007	0,0003	0,0001	4E-05	0	0,0004
	71	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	71	0,7754	0,1186	0,0517	0,0256	0,0135	0,0073	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	72	F	0,999	7E-04	0	0,105		F	72	0,8506	0,0973	0,0319	0,012	0,0048	0,002	0,0008	0,0004	0,0002	5E-05	0	0,0004
	73	V	0,924	0,076	2E-04	0,105		V	73	0,1532	0,1794	0,1873	0,1571	0,1179	0,0826	0,055	0,035	0,021	0,0109	0,0007	0,0208
	74	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	74	0,7756	0,1185	0,0517	0,0256	0,0134	0,0073	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	75	H	0,999	5E-04	0	0,105		H	75	0,855	0,096	0,0307	0,0112	0,0043	0,0017	0,0007	0,0003	0,0001	4E-05	0	0,0004
	76	L	0,968	0,032	6E-04	0,105		L	76	0,6768	0,129	0,0703	0,0434	0,0284	0,0192	0,0131	0,009	0,006	0,0035	0,0014	0,0004
77	A	1	3E-04	0	0,105	A	77	0,867	0,0909	0,0273	0,0093	0,0034	0,0013	0,0005	0,0002	7E-05	3E-05	0	0,0004		
78	L	0,994	0,006	1E-05	0,105	L	78	0,7764	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004		
79	T	0,995	0,005	1E-05	0,105	T	79	0,7873	0,1157	0,0487	0,0234	0,0119	0,0063	0,0034	0,0018	0,001	0,0005	3E-05	0,0004		
TM2	80	D	0,999	8E-04	0	0,105	TM2	D	80	0,8421	0,1008	0,0344	0,0133	0,0055	0,0023	0,001	0,0004	0,0002	7E-05	0	0,0004
	81	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	81	0,7761	0,1184	0,0516	0,0255	0,0134	0,0072	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	82	A	0,995	0,005	0	0,105		A	82	0,5737	0,1987	0,1099	0,0583	0,0301	0,0153	0,0077	0,0038	0,0018	0,0007	1E-05	0,0004
	83	V	0,99	0,01	1E-05	0,105		V	83	0,5161	0,1992	0,1227	0,0722	0,0414	0,0233	0,0129	0,007	0,0036	0,0016	6E-05	0,0004
	84	A	0,998	0,002	0	0,105		A	84	0,8192	0,1081	0,0407	0,0174	0,0079	0,0037	0,0017	0,0008	0,0004	0,0002	0	0,0004
	85	L	0,998	0,002	0	0,105		L	85	0,633	0,1922	0,0937	0,0441	0,0204	0,0093	0,0042	0,0019	0,0008	0,0003	0	0,0004
	86	F	1	2E-04	0	0,105		F	86	0,8722	0,0888	0,0258	0,0085	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	5E-05	2E-05	0	0,0004
	87	Q	0,996	0,004	1E-05	0,105		Q	87	0,7835	0,1172	0,0499	0,0241	0,0123	0,0064	0,0034	0,0018	0,0009	0,0004	2E-05	0,0004
	88	V	0,999	8E-04	0	0,105		V	88	0,8454	0,0995	0,0334	0,0128	0,0052	0,0022	0,0009	0,0004	0,0002	6E-05	0	0,0004
	89	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	89	0,7764	0,1184	0,0515	0,0255	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004



ECL1	90	P	1	3E-04	0	0,105	ECL1	P	90	0,8749	0,0874	0,025	0,0082	0,0029	0,0011	0,0004	0,0002	5E-05	2E-05	0	0,0004
	91	Q	0,996	0,004	0	0,105		Q	91	0,7848	0,1169	0,0496	0,0238	0,0121	0,0063	0,0033	0,0018	0,0009	0,0004	2E-05	0,0004
	92	L	0,966	0,034	1E-04	0,105		L	92	0,4197	0,1892	0,1361	0,0934	0,0624	0,0408	0,0262	0,0165	0,0099	0,0052	0,0005	0,0004
	93	L	0,969	0,031	8E-05	0,105		L	93	0,4293	0,1906	0,1351	0,0915	0,0603	0,0389	0,0247	0,0153	0,0091	0,0048	0,0004	0,0004
	94	W	0,993	0,007	1E-05	0,105		W	94	0,7618	0,1214	0,055	0,0282	0,0153	0,0085	0,0048	0,0027	0,0015	0,0007	4E-05	0,0004
	95	D	0,999	7E-04	0	0,105		D	95	0,8459	0,0994	0,0333	0,0127	0,0051	0,0021	0,0009	0,0004	0,0002	6E-05	0	0,0004
	96	I	1	2E-04	0	0,105		I	96	0,8809	0,0847	0,0233	0,0073	0,0025	0,0009	0,0003	0,0001	4E-05	1E-05	0	0,0004
	97	T	1	3E-04	0	0,105		T	97	0,8659	0,0915	0,0276	0,0095	0,0035	0,0013	0,0005	0,0002	7E-05	2E-05	0	0,0004
	98	Y	0,994	0,006	0	0,105		Y	98	0,5492	0,2003	0,1162	0,0643	0,0345	0,0182	0,0094	0,0047	0,0023	0,001	2E-05	0,0004
	99	R	0,998	0,002	0	0,105		R	99	0,8235	0,1067	0,0395	0,0166	0,0074	0,0034	0,0016	0,0008	0,0004	0,0002	0	0,0004
	100	F	1	2E-04	0	0,105		F	100	0,8795	0,0855	0,0237	0,0075	0,0025	0,0009	0,0003	0,0001	4E-05	1E-05	0	0,0004
	101	Q	0,394	0,601	0,006	1		Q	101	0,0126	0,0515	0,1032	0,139	0,1532	0,149	0,1326	0,1095	0,0834	0,0532	0,0129	0,0906
	102	G	0,999	1E-03	0	0,105		G	102	0,838	0,1021	0,0355	0,014	0,0059	0,0026	0,0011	0,0005	0,0002	8E-05	0	0,0004
	103	P	0,989	0,011	1E-05	0,105		P	103	0,5208	0,1987	0,1213	0,071	0,0406	0,0228	0,0127	0,0069	0,0036	0,0017	6E-05	0,0004
	104	D	0,999	7E-04	0	0,105		D	104	0,8459	0,0994	0,0333	0,0127	0,0051	0,0021	0,0009	0,0004	0,0002	6E-05	0	0,0004
	105	L	0,998	0,002	0	0,105		L	105	0,6398	0,1912	0,0918	0,0425	0,0193	0,0087	0,0039	0,0017	0,0007	0,0003	0	0,0004
	106	L	0,998	0,002	0	0,105		L	106	0,8293	0,1044	0,0378	0,0157	0,0069	0,0032	0,0015	0,0007	0,0003	0,0001	0	0,0004
	107	C	0,994	0,006	0	0,105		C	107	0,5494	0,2001	0,1161	0,0642	0,0345	0,0182	0,0094	0,0048	0,0023	0,001	2E-05	0,0004
	108	R	0,956	0,044	2E-04	0,105		R	108	0,4014	0,1853	0,1367	0,0965	0,0664	0,0449	0,0298	0,0194	0,0121	0,0066	0,0009	0,0004
	109	A	0,746	0,251	0,003	0,105		A	109	0,0863	0,1208	0,1505	0,1506	0,135	0,1128	0,0896	0,068	0,0487	0,0298	0,008	0,0481
	110	V	0,999	0,001	0	0,105		V	110	0,6503	0,1902	0,089	0,04	0,0176	0,0076	0,0033	0,0014	0,0006	0,0002	0	0,0004
111	K	0,996	0,004	0	0,105	K	111	0,7897	0,1159	0,0484	0,0229	0,0114	0,0059	0,0031	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004		
112	Y	0,998	0,002	0	0,105	Y	112	0,8163	0,1091	0,0415	0,0179	0,0082	0,0038	0,0018	0,0009	0,0004	0,0002	0	0,0004		
113	L	0,994	0,006	1E-05	0,105	L	113	0,7759	0,1185	0,0516	0,0255	0,0134	0,0072	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004		
114	Q	0,995	0,005	1E-05	0,105	Q	114	0,7776	0,1184	0,0513	0,0252	0,0131	0,007	0,0038	0,002	0,0011	0,0005	2E-05	0,0004		
115	V	0,602	0,396	0,002	0,105	V	115	0,0211	0,0764	0,1363	0,1641	0,1621	0,142	0,1141	0,0855	0,0593	0,0346	0,0045	0,0481		
116	L	1	3E-04	0	0,105	L	116	0,873	0,0881	0,0256	0,0085	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004		
117	S	0,999	6E-04	0	0,105	S	117	0,8508	0,0976	0,0319	0,0119	0,0047	0,0019	0,0008	0,0003	0,0001	5E-05	0	0,0004		
118	M	0,997	0,003	0	0,105	M	118	0,5918	0,1979	0,1056	0,0538	0,0268	0,0131	0,0063	0,003	0,0013	0,0005	1E-05	0,0004		
119	F	1	3E-04	0	0,105	F	119	0,8689	0,0902	0,0267	0,009	0,0032	0,0012	0,0005	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004		
120	A	1	2E-04	0	0,105	A	120	0,8743	0,0877	0,0252	0,0083	0,0029	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004		
121	S	1	4E-04	0	0,105	S	121	0,8583	0,0947	0,0298	0,0107	0,004	0,0016	0,0006	0,0003	0,0001	3E-05	0	0,0004		

ICL2	122	T	1	3E-04	0	0,105	T	122	0,8733	0,0882	0,0255	0,0084	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	5E-05	2E-05	0	0,0004
	123	Y	0,998	0,002	0	0,105	Y	123	0,8181	0,1086	0,041	0,0176	0,0079	0,0037	0,0017	0,0008	0,0004	0,0002	0	0,0004
	124	M	0,999	5E-04	0	0,105	M	124	0,8552	0,0959	0,0307	0,0112	0,0043	0,0017	0,0007	0,0003	0,0001	4E-05	0	0,0004
	125	L	0,994	0,006	1E-05	0,105	L	125	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	126	L	0,994	0,006	1E-05	0,105	L	126	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	127	A	1	2E-04	0	0,105	A	127	0,8743	0,0877	0,0252	0,0083	0,0029	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
	128	M	0,999	5E-04	0	0,105	M	128	0,8552	0,0959	0,0307	0,0112	0,0043	0,0017	0,0007	0,0003	0,0001	4E-05	0	0,0004
	129	T	0,996	0,004	0	0,105	T	129	0,7893	0,1159	0,0484	0,023	0,0115	0,006	0,0031	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004
	130	L	0,964	0,036	1E-04	0,105	L	130	0,4147	0,1883	0,1364	0,0943	0,0635	0,0419	0,0272	0,0172	0,0105	0,0055	0,0005	0,0004
	131	D	0,999	8E-04	0	0,105	D	131	0,843	0,1005	0,0341	0,0132	0,0054	0,0023	0,001	0,0004	0,0002	6E-05	0	0,0004
	132	R	0,999	1E-03	0	0,105	R	132	0,8399	0,1014	0,035	0,0137	0,0057	0,0025	0,0011	0,0005	0,0002	8E-05	0	0,0004
	133	Y	0,998	0,002	0	0,105	Y	133	0,8181	0,1086	0,041	0,0176	0,0079	0,0037	0,0017	0,0008	0,0004	0,0002	0	0,0004
	134	L	0,994	0,006	1E-05	0,105	L	134	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	135	A	0,983	0,017	1E-04	0,105	A	135	0,7189	0,1266	0,0636	0,0363	0,0219	0,0136	0,0085	0,0054	0,0033	0,0018	0,0003	0,0004
	136	V	0,998	0,002	0	0,105	V	136	0,6471	0,1904	0,0898	0,0408	0,0181	0,008	0,0035	0,0015	0,0006	0,0002	0	0,0004
	137	C	0,972	0,028	3E-04	0,105	C	137	0,6828	0,1294	0,0699	0,0427	0,0275	0,0182	0,0122	0,0082	0,0053	0,0031	0,0007	0,0004
	138	H	0,999	5E-04	0	0,105	H	138	0,855	0,096	0,0307	0,0112	0,0043	0,0017	0,0007	0,0003	0,0001	4E-05	0	0,0004
	139	P	1	3E-04	0	0,105	P	139	0,8712	0,089	0,0261	0,0087	0,0031	0,0012	0,0004	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
	TM4	140	L	0,994	0,006	1E-05	0,105	L	140	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05
141		R	0,999	8E-04	0	0,105	R	141	0,8433	0,1002	0,034	0,0131	0,0054	0,0023	0,001	0,0004	0,0002	7E-05	0	0,0004
142		S	0,996	0,004	0	0,105	S	142	0,5813	0,1987	0,1082	0,0564	0,0286	0,0143	0,007	0,0034	0,0016	0,0006	1E-05	0,0004
143		L	0,998	0,002	0	0,105	L	143	0,6238	0,1938	0,0965	0,0462	0,0217	0,0101	0,0046	0,0021	0,0009	0,0004	0	0,0004
144		Q	0,841	0,158	6E-04	0,105	Q	144	0,1085	0,1436	0,1685	0,1582	0,1324	0,103	0,0758	0,0531	0,035	0,0197	0,0022	0,0208
145		Q	0,835	0,164	7E-04	0,105	Q	145	0,1069	0,142	0,1673	0,1578	0,1327	0,1037	0,0768	0,0542	0,0359	0,0204	0,0024	0,0208
146		P	1	4E-04	0	0,105	P	146	0,8671	0,0907	0,0272	0,0094	0,0034	0,0013	0,0005	0,0002	8E-05	3E-05	0	0,0004
147		G	0,002	0,964	0,034	1	G	147	0	0,0005	0,0065	0,0268	0,0641	0,1114	0,1555	0,1839	0,1875	0,1511	0,1127	0,5082
148		Q	0,995	0,005	1E-05	0,105	Q	148	0,7775	0,1185	0,0514	0,0252	0,0131	0,007	0,0038	0,002	0,0011	0,0005	2E-05	0,0004
149		S	0,557	0,442	7E-04	0,105	S	149	0,0063	0,055	0,1315	0,1783	0,1825	0,1575	0,1208	0,0844	0,0537	0,0284	0,0016	0,0906
150		T	0,984	0,016	1E-05	0,105	T	150	0,2532	0,2373	0,1989	0,1345	0,0817	0,0465	0,0253	0,0132	0,0065	0,0028	6E-05	0,0004
151		Y	0,801	0,198	0,001	0,105	Y	151	0,0973	0,1326	0,1605	0,1556	0,1346	0,1083	0,0826	0,06	0,041	0,024	0,0038	0,0208
152		L	0,017	0,915	0,068	1	L	152	0,0001	0,0036	0,0189	0,0477	0,0837	0,1179	0,1429	0,1541	0,1487	0,117	0,1654	2,4661
153		L	0,986	0,014	1E-05	0,105	L	153	0,2656	0,2413	0,1969	0,1302	0,0778	0,0437	0,0236	0,0122	0,0061	0,0026	6E-05	0,0004

<b>154</b>	<b>I</b>	1	3E-04	0	0,105	<b>I 154</b>	0,8736	0,0881	0,0254	0,0084	0,0029	0,0011	0,0004	0,0002	5E-05	2E-05	0	0,0004
<b>155</b>	<b>A</b>	0,971	0,029	3E-04	0,105	<b>A 155</b>	0,6801	0,1296	0,0703	0,0432	0,028	0,0186	0,0125	0,0084	0,0055	0,0032	0,0008	0,0004
<b>156</b>	<b>A</b>	0,435	0,535	0,03	1	<b>A 156</b>	0,0398	0,0672	0,1001	0,1191	0,1262	0,1241	0,1154	0,1019	0,0845	0,0594	0,0622	0,0906
<b>157</b>	<b>P</b>	1	2E-04	0	0,105	<b>P 157</b>	0,877	0,0864	0,0244	0,0079	0,0027	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
<b>158</b>	<b>W</b>	0,993	0,007	1E-05	0,105	<b>W 158</b>	0,7618	0,1214	0,055	0,0282	0,0153	0,0085	0,0048	0,0027	0,0015	0,0007	4E-05	0,0004
<b>159</b>	<b>L</b>	0,994	0,006	1E-05	0,105	<b>L 159</b>	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
<b>160</b>	<b>L</b>	0,994	0,006	1E-05	0,105	<b>L 160</b>	0,7752	0,1186	0,0518	0,0257	0,0135	0,0073	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
<b>161</b>	<b>A</b>	0,999	0,001	0	0,105	<b>A 161</b>	0,8242	0,1067	0,0393	0,0165	0,0073	0,0033	0,0015	0,0007	0,0003	0,0001	0	0,0004
<b>162</b>	<b>A</b>	0,998	0,002	0	0,105	<b>A 162</b>	0,6303	0,1933	0,0948	0,0446	0,0206	0,0093	0,0042	0,0018	0,0008	0,0003	0	0,0004
<b>163</b>	<b>I</b>	0,988	0,012	1E-05	0,105	<b>I 163</b>	0,2721	0,2452	0,1977	0,1287	0,0753	0,0413	0,0216	0,0108	0,0052	0,0021	4E-05	0,0004
<b>164</b>	<b>F</b>	0,985	0,015	1E-05	0,105	<b>F 164</b>	0,2634	0,2401	0,1968	0,1308	0,0786	0,0445	0,0241	0,0126	0,0063	0,0027	7E-05	0,0004
<b>165</b>	<b>S</b>	0,999	6E-04	0	0,105	<b>S 165</b>	0,8508	0,0976	0,0319	0,0119	0,0047	0,0019	0,0008	0,0003	0,0001	5E-05	0	0,0004
<b>166</b>	<b>L</b>	0,997	0,003	0	0,105	<b>L 166</b>	0,6134	0,1945	0,0991	0,0487	0,0236	0,0113	0,0054	0,0025	0,0011	0,0005	1E-05	0,0004
<b>167</b>	<b>P</b>	0,99	0,01	3E-05	0,105	<b>P 167</b>	0,7447	0,1239	0,0587	0,0315	0,0179	0,0104	0,0061	0,0036	0,0021	0,0011	9E-05	0,0004
<b>168</b>	<b>Q</b>	0	0,079	0,921	3,67	<b>Q 168</b>	0	0	1E-05	6E-05	0,0003	0,0009	0,0022	0,0043	0,0072	0,0093	0,9759	2,4661
<b>169</b>	<b>V</b>	0,999	0,002	0	0,105	<b>V 169</b>	0,6474	0,1904	0,0897	0,0407	0,0181	0,008	0,0035	0,0015	0,0006	0,0002	0	0,0004
<b>170</b>	<b>F</b>	1	2E-04	0	0,105	<b>F 170</b>	0,8795	0,0855	0,0237	0,0075	0,0025	0,0009	0,0003	0,0001	4E-05	1E-05	0	0,0004
<b>171</b>	<b>I</b>	0,981	0,018	1E-04	0,105	<b>I 171</b>	0,7102	0,1278	0,0654	0,0379	0,0232	0,0146	0,0093	0,0059	0,0036	0,002	0,0003	0,0004
<b>172</b>	<b>F</b>	0,979	0,021	1E-04	0,105	<b>F 172</b>	0,7011	0,1285	0,067	0,0396	0,0246	0,0157	0,0102	0,0066	0,0041	0,0023	0,0004	0,0004
<b>173</b>	<b>S</b>	0,985	0,015	6E-05	0,105	<b>S 173</b>	0,7215	0,1267	0,0634	0,0358	0,0214	0,0131	0,0081	0,005	0,003	0,0016	0,0002	0,0004
<b>174</b>	<b>L</b>	0,981	0,018	1E-04	0,105	<b>L 174</b>	0,7126	0,1273	0,0648	0,0374	0,0228	0,0143	0,0091	0,0058	0,0036	0,002	0,0003	0,0004
<b>175</b>	<b>R</b>	0,852	0,145	0,003	0,105	<b>R 175</b>	0,2718	0,1523	0,1353	0,114	0,093	0,0739	0,0574	0,0434	0,0314	0,0196	0,0079	0,0004
<b>176</b>	<b>E</b>	0,99	0,01	3E-05	0,105	<b>E 176</b>	0,7471	0,1235	0,0582	0,031	0,0175	0,0101	0,006	0,0035	0,002	0,001	8E-05	0,0004
<b>177</b>	<b>V</b>	0,994	0,006	1E-05	0,105	<b>V 177</b>	0,7719	0,1191	0,0525	0,0263	0,014	0,0077	0,0043	0,0024	0,0013	0,0006	4E-05	0,0004
<b>178</b>	<b>I</b>	0,309	0,687	0,004	1	<b>I 178</b>	0,0035	0,0346	0,0936	0,1437	0,1666	0,1632	0,1423	0,1132	0,0821	0,0495	0,0077	0,0906
<b>179</b>	<b>Q</b>	0,906	0,094	9E-04	0,105	<b>Q 179</b>	0,3204	0,167	0,1386	0,1095	0,0839	0,0628	0,046	0,0329	0,0225	0,0134	0,0031	0,0004
<b>180</b>	<b>G</b>	0,996	0,004	0	0,105	<b>G 180</b>	0,7959	0,1141	0,0467	0,0217	0,0107	0,0055	0,0028	0,0015	0,0008	0,0003	1E-05	0,0004
<b>181</b>	<b>S</b>	0,988	0,012	5E-05	0,105	<b>S 181</b>	0,738	0,1246	0,06	0,0327	0,0189	0,0112	0,0068	0,0041	0,0024	0,0012	0,0001	0,0004
<b>182</b>	<b>G</b>	0,988	0,012	4E-05	0,105	<b>G 182</b>	0,74	0,1244	0,0596	0,0324	0,0186	0,011	0,0066	0,0039	0,0023	0,0012	0,0001	0,0004
<b>183</b>	<b>V</b>	0,994	0,006	1E-05	0,105	<b>V 183</b>	0,7757	0,1184	0,0516	0,0256	0,0134	0,0073	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
<b>184</b>	<b>L</b>	0,986	0,014	8E-05	0,105	<b>L 184</b>	0,7306	0,1253	0,0613	0,0341	0,0201	0,0122	0,0075	0,0046	0,0028	0,0015	0,0002	0,0004
<b>185</b>	<b>D</b>	0,997	0,003	0	0,105	<b>D 185</b>	0,8002	0,1132	0,0457	0,0209	0,0102	0,0051	0,0026	0,0013	0,0007	0,0003	1E-05	0,0004

TM5	186	C	0,996	0,004	0	0,105	TM5	C	186	0,7918	0,1153	0,0478	0,0225	0,0112	0,0057	0,003	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004
	187	W	0,984	0,016	8E-05	0,105		W	187	0,7184	0,127	0,0639	0,0364	0,0219	0,0135	0,0085	0,0053	0,0032	0,0017	0,0002	0,0004
	188	A	0,946	0,052	0,002	0,105		A	188	0,6321	0,1299	0,0761	0,0505	0,0353	0,0254	0,0185	0,0134	0,0095	0,0059	0,0035	0,0004
	189	D	0,997	0,003	0	0,105		D	189	0,796	0,1142	0,0467	0,0217	0,0107	0,0054	0,0028	0,0014	0,0007	0,0003	1E-05	0,0004
	190	F	0,999	0,001	0	0,105		F	190	0,8355	0,1029	0,0362	0,0145	0,0062	0,0027	0,0012	0,0006	0,0002	9E-05	0	0,0004
	191	G	0,497	0,498	0,004	1		G	191	0,0168	0,0639	0,12	0,1519	0,1578	0,1454	0,1231	0,097	0,0709	0,0436	0,0095	0,0906
	192	F	0,999	0,001	0	0,105		F	192	0,8313	0,1042	0,0374	0,0152	0,0066	0,003	0,0014	0,0006	0,0003	0,0001	0	0,0004
	193	P	0,994	0,006	2E-05	0,105		P	193	0,7843	0,116	0,0493	0,0239	0,0124	0,0067	0,0037	0,002	0,0011	0,0005	4E-05	0,0004
	194	W	0,984	0,016	8E-05	0,105		W	194	0,7184	0,127	0,0639	0,0364	0,0219	0,0135	0,0085	0,0053	0,0032	0,0017	0,0002	0,0004
	195	G	0,988	0,012	5E-05	0,105		G	195	0,7368	0,1248	0,0602	0,033	0,0191	0,0114	0,0069	0,0041	0,0024	0,0013	0,0001	0,0004
	196	P	0,033	0,559	0,408	1		P	196	0,001	0,0055	0,0149	0,0272	0,0406	0,0534	0,0642	0,0716	0,0737	0,0633	0,5847	2,4661
	197	R	0,989	0,011	4E-05	0,105		R	197	0,7427	0,124	0,059	0,0319	0,0182	0,0107	0,0064	0,0038	0,0022	0,0011	0,0001	0,0004
	198	A	0,962	0,038	5E-05	0,105		A	198	0,1996	0,2093	0,1963	0,1485	0,101	0,0644	0,0392	0,0229	0,0127	0,0061	0,0003	0,0059
	199	Y	0,459	0,537	0,004	1		Y	199	0,0149	0,0586	0,1134	0,1474	0,157	0,1478	0,1274	0,102	0,0754	0,0468	0,0094	0,0906
	200	L	0,992	0,008	1E-05	0,105		L	200	0,5545	0,1975	0,1134	0,0628	0,0342	0,0185	0,0099	0,0053	0,0027	0,0012	5E-05	0,0004
	201	T	0,999	0,001	0	0,105		T	201	0,8384	0,1018	0,0354	0,014	0,0059	0,0026	0,0012	0,0005	0,0002	9E-05	0	0,0004
	202	W	0,987	0,013	4E-05	0,105		W	202	0,7327	0,1255	0,0612	0,0338	0,0197	0,0118	0,0071	0,0043	0,0025	0,0013	0,0001	0,0004
203	T	0,999	9E-04	0	0,105	T	203	0,844	0,0998	0,0338	0,0131	0,0054	0,0023	0,001	0,0004	0,0002	7E-05	0	0,0004		
204	T	0,994	0,006	0	0,105	T	204	0,559	0,1989	0,1132	0,0618	0,033	0,0173	0,009	0,0046	0,0022	0,001	3E-05	0,0004		
205	L	0,934	0,065	5E-04	0,105	L	205	0,3604	0,1769	0,1385	0,1036	0,0754	0,0537	0,0376	0,0257	0,0169	0,0096	0,0018	0,0004		
206	A	0,998	0,002	0	0,105	A	206	0,8141	0,1091	0,0419	0,0184	0,0086	0,0042	0,0021	0,001	0,0005	0,0002	1E-05	0,0004		
207	I	0,996	0,004	0	0,105	I	207	0,5947	0,1967	0,1043	0,0532	0,0266	0,0131	0,0064	0,0031	0,0014	0,0006	1E-05	0,0004		
208	F	0,996	0,004	0	0,105	F	208	0,7885	0,1161	0,0487	0,0231	0,0116	0,006	0,0032	0,0017	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004		
209	V	0,703	0,296	0,001	0,105	V	209	0,0277	0,093	0,1551	0,1748	0,1624	0,1342	0,1022	0,0727	0,0481	0,0269	0,0029	0,0481		
210	L	0,99	0,01	3E-05	0,105	L	210	0,7513	0,1226	0,0571	0,0302	0,0169	0,0098	0,0057	0,0034	0,0019	0,001	9E-05	0,0004		
211	P	0,988	0,012	6E-05	0,105	P	211	0,7408	0,1237	0,0591	0,0322	0,0186	0,0111	0,0067	0,0041	0,0024	0,0013	0,0002	0,0004		
212	V	0,998	0,002	0	0,105	V	212	0,8226	0,1071	0,0398	0,0168	0,0075	0,0035	0,0016	0,0008	0,0004	0,0001	0	0,0004		
213	T	0,984	0,016	1E-05	0,105	T	213	0,2522	0,2369	0,1989	0,1348	0,0821	0,0468	0,0255	0,0133	0,0066	0,0028	6E-05	0,0004		
214	M	0,99	0,01	1E-05	0,105	M	214	0,5195	0,1993	0,122	0,0714	0,0407	0,0228	0,0126	0,0068	0,0035	0,0016	6E-05	0,0004		
215	L	1	3E-04	0	0,105	L	215	0,8716	0,0887	0,026	0,0087	0,0031	0,0012	0,0005	0,0002	7E-05	2E-05	0	0,0004		
216	T	0,997	0,003	0	0,105	T	216	0,8026	0,1126	0,0451	0,0205	0,0098	0,0049	0,0025	0,0012	0,0006	0,0003	1E-05	0,0004		
217	A	0,989	0,011	0	0,105	A	217	0,2759	0,2468	0,1975	0,1275	0,0739	0,0402	0,0209	0,0104	0,0049	0,002	3E-05	0,0004		

ICL3	218	C	0,999	9E-04	0	0,105	ICL3	C	218	0,8377	0,1024	0,0356	0,0141	0,0059	0,0025	0,0011	0,0005	0,0002	8E-05	0	0,0004		
	219	Y	0,998	0,002	0	0,105		Y	219	0,8181	0,1086	0,041	0,0176	0,0079	0,0037	0,0017	0,0008	0,0004	0,0004	0,0002	0	0,0004	
	220	S	0,973	0,027	2E-05	0,105		S	220	0,214	0,2187	0,1993	0,1459	0,0957	0,0586	0,0341	0,019	0,01	0,0045	0,0001	0,0059		
	221	L	1	3E-04	0	0,105		L	221	0,8746	0,0874	0,0251	0,0083	0,0029	0,0011	0,0004	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004		
	222	I	0,955	0,045	3E-05	0,105		I	222	0,0728	0,1827	0,2289	0,1947	0,1371	0,0862	0,0501	0,0274	0,014	0,0061	0,0001	0,0208		
	223	C	0,999	0,001	0	0,105		C	223	0,8343	0,1035	0,0366	0,0147	0,0062	0,0027	0,0012	0,0005	0,0002	9E-05	0	0,0004		
	224	H	0,825	0,174	0,001	0,105		H	224	0,1066	0,1407	0,1653	0,156	0,1317	0,1037	0,0776	0,0555	0,0375	0,0217	0,0037	0,0208		
	225	E	0,758	0,24	0,001	0,105		E	225	0,0831	0,1204	0,1534	0,1552	0,1391	0,1152	0,0899	0,0665	0,0461	0,0271	0,004	0,0481		
	226	I	1	2E-04	0	0,105		I	226	0,8808	0,0847	0,0233	0,0074	0,0025	0,0009	0,0003	0,0001	4E-05	1E-05	0	0,0004		
	227	C	0,795	0,198	0,007	0,105		C	227	0,2358	0,1381	0,1285	0,1137	0,0975	0,0816	0,0667	0,0531	0,0404	0,0266	0,018	0,0004		
	228	K	0,966	0,034	5E-04	0,105		K	228	0,6684	0,13	0,0719	0,0451	0,0298	0,0202	0,0139	0,0095	0,0064	0,0037	0,0011	0,0004		
	229	N	0,999	9E-04	0	0,105		N	229	0,8395	0,1017	0,0351	0,0138	0,0057	0,0024	0,0011	0,0005	0,0002	7E-05	0	0,0004		
	230	L	0,995	0,005	1E-05	0,105		L	230	0,7837	0,117	0,0498	0,024	0,0123	0,0065	0,0035	0,0018	0,001	0,0004	2E-05	0,0004		
	231	K	0,954	0,045	1E-03	0,105		K	231	0,6437	0,1303	0,0751	0,049	0,0337	0,0238	0,0169	0,012	0,0083	0,0051	0,0022	0,0004		
	232	V	0,988	0,012	1E-05	0,105		V	232	0,2704	0,2441	0,1974	0,129	0,0759	0,042	0,0222	0,0113	0,0054	0,0023	5E-05	0,0004		
	233	K	0,996	0,004	0	0,105		K	233	0,7897	0,1159	0,0484	0,0229	0,0114	0,0059	0,0031	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004		
	234	T	0,723	0,259	0,018	0,105		T	234	0,2001	0,1227	0,1195	0,1107	0,0993	0,087	0,0744	0,062	0,0494	0,0339	0,0411	0,0004		
	235	Q	0,833	0,166	7E-04	0,105		Q	235	0,1063	0,1414	0,1669	0,1577	0,1328	0,104	0,0771	0,0545	0,0362	0,0206	0,0025	0,0208		
	236	A	1	4E-04	0	0,105		A	236	0,8613	0,0934	0,0289	0,0102	0,0038	0,0015	0,0006	0,0002	9E-05	3E-05	0	0,0004		
	237	W	0,954	0,046	2E-04	0,105		W	237	0,3883	0,1841	0,1389	0,0997	0,0695	0,0473	0,0315	0,0204	0,0127	0,0069	0,0007	0,0004		
	238	R	0,792	0,206	0,002	0,105		R	238	0,0962	0,1312	0,1589	0,1545	0,1342	0,1086	0,0834	0,0611	0,0422	0,025	0,0049	0,0208		
	239	V	0,316	0,67	0,014	1		V	239	0,0103	0,0436	0,0903	0,1261	0,1444	0,1463	0,1359	0,1175	0,0939	0,0629	0,0288	0,1516		
	240	G	0,003	0,344	0,653	3,67		G	240	3E-05	0,0005	0,0024	0,0061	0,0117	0,0189	0,027	0,0348	0,0406	0,039	0,819	2,4661		
	241	G	0,652	0,31	0,038	0,105		G	241	0,1708	0,1086	0,1096	0,1052	0,0978	0,0888	0,0787	0,0679	0,056	0,0398	0,0769	0,0004		
	242	G	0,002	0,891	0,107	1		G	242	1E-05	0,0006	0,0051	0,0188	0,0437	0,077	0,1122	0,1412	0,1554	0,1366	0,3094	2,4661		
	243	G	0,074	0,92	0,006	1		G	243	0,0004	0,0105	0,0464	0,098	0,1433	0,1679	0,1689	0,1509	0,1204	0,0783	0,0153	0,2358		
	244	W	0,993	0,007	1E-05	0,105		W	244	0,7618	0,1214	0,055	0,0282	0,0153	0,0085	0,0048	0,0027	0,0015	0,0007	4E-05	0,0004		
	245	R	0,831	0,165	0,004	0,105		R	245	0,2607	0,1473	0,1325	0,1134	0,0941	0,0763	0,0605	0,0468	0,0346	0,0222	0,0117	0,0004		
	246	T	0,712	0,266	0,022	0,105		T	246	0,1959	0,1205	0,1179	0,1097	0,0989	0,0871	0,0749	0,0628	0,0503	0,0348	0,0473	0,0004		
247	W	0,903	0,096	0,001	0,105	W	247	0,3195	0,1663	0,1379	0,1091	0,0838	0,063	0,0464	0,0334	0,023	0,0138	0,0038	0,0004				
248	D	0,345	0,642	0,012	1	D	248	0,0114	0,0469	0,0955	0,1309	0,1472	0,1466	0,1339	0,1139	0,0896	0,0592	0,0249	0,0906				
249	R	0,646	0,348	0,006	0,105	R	249	0,0664	0,1002	0,134	0,1434	0,1368	0,1213	0,1019	0,0814	0,0611	0,0391	0,0143	0,0481				

250	P	0,136	0,86	0,004	1	P	250	0,0006	0,0158	0,0633	0,1212	0,1618	0,1739	0,1614	0,1336	0,0994	0,0606	0,0085	0,1516
251	S	0,938	0,06	0,002	0,105	S	251	0,6178	0,1297	0,0776	0,0525	0,0375	0,0274	0,0203	0,015	0,0108	0,0068	0,0046	0,0004
252	P	0,84	0,157	0,004	0,105	P	252	0,2642	0,1487	0,1331	0,1134	0,0937	0,0756	0,0597	0,0459	0,0338	0,0215	0,0103	0,0004
253	S	0,226	0,753	0,021	1	S	253	0,0074	0,0334	0,074	0,1101	0,1339	0,1437	0,1409	0,1282	0,1075	0,0752	0,0457	0,1516
254	T	0,888	0,112	1E-04	0,105	T	254	0,0479	0,1386	0,1991	0,1935	0,155	0,1105	0,0726	0,0446	0,0255	0,0124	0,0005	0,0208
255	L	0,048	0,675	0,277	1	L	255	0,0015	0,0081	0,0215	0,0384	0,0559	0,0718	0,0842	0,0916	0,0917	0,0767	0,4585	2,4661
256	A	0,026	0,835	0,138	1	A	256	0,0004	0,0051	0,0196	0,0426	0,0695	0,0952	0,1154	0,1267	0,1261	0,1033	0,2965	2,4661
257	A	0,857	0,143	5E-04	0,105	A	257	0,1142	0,1486	0,1716	0,1587	0,1308	0,1003	0,0728	0,0503	0,0327	0,0182	0,0019	0,0208
258	T	0,986	0,014	1E-05	0,105	T	258	0,2629	0,2414	0,1983	0,1315	0,0784	0,0438	0,0234	0,012	0,0059	0,0025	5E-05	0,0004
259	T	0,332	0,62	0,048	1	T	259	0,0283	0,0522	0,0839	0,1065	0,1193	0,1233	0,1197	0,1098	0,0943	0,0684	0,0945	0,1516
260	R	0,011	0,923	0,066	1	R	260	7E-05	0,0025	0,0144	0,0391	0,0733	0,1094	0,1396	0,1574	0,1577	0,1279	0,1786	2,4661
261	G	0,995	0,005	1E-05	0,105	G	261	0,7837	0,1171	0,0498	0,024	0,0123	0,0064	0,0034	0,0018	0,001	0,0004	2E-05	0,0004
262	L	0,964	0,036	1E-04	0,105	L	262	0,4157	0,1885	0,1363	0,0942	0,0633	0,0417	0,027	0,017	0,0104	0,0055	0,0005	0,0004
263	P	0,38	0,56	0,059	1	P	263	0,0345	0,0591	0,0895	0,1084	0,1172	0,1178	0,1122	0,1016	0,0866	0,0627	0,1105	0,1516
264	S	0,995	0,005	0	0,105	S	264	0,5641	0,1995	0,1125	0,0606	0,0318	0,0164	0,0083	0,0041	0,002	0,0008	2E-05	0,0004
265	R	0,959	0,041	1E-04	0,105	R	265	0,4025	0,1863	0,1375	0,0968	0,0662	0,0444	0,0292	0,0187	0,0115	0,0062	0,0006	0,0004
266	V	1	3E-04	0	0,105	V	266	0,8724	0,0884	0,0257	0,0086	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
267	S	0,999	8E-04	0	0,105	S	267	0,8448	0,0998	0,0336	0,0129	0,0052	0,0022	0,0009	0,0004	0,0002	6E-05	0	0,0004
268	S	0,996	0,004	0	0,105	S	268	0,5791	0,1988	0,1088	0,0569	0,029	0,0145	0,0072	0,0035	0,0016	0,0007	1E-05	0,0004
269	I	0,99	0,01	0	0,105	I	269	0,2808	0,2487	0,197	0,1258	0,0723	0,0389	0,02	0,0099	0,0047	0,0019	3E-05	0,0004
270	N	0,742	0,257	5E-04	0,105	N	270	0,0295	0,0982	0,1618	0,1797	0,1639	0,1324	0,0982	0,0679	0,0435	0,0235	0,0017	0,0481
271	T	1	3E-04	0	0,105	T	271	0,8733	0,0882	0,0255	0,0084	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	5E-05	2E-05	0	0,0004
272	I	1	2E-04	0	0,105	I	272	0,8843	0,083	0,0224	0,0069	0,0023	0,0008	0,0003	9E-05	3E-05	1E-05	0	0,0004
273	S	0,95	0,049	0,001	0,105	S	273	0,6378	0,1301	0,0756	0,0497	0,0345	0,0246	0,0177	0,0128	0,0089	0,0055	0,0029	0,0004
274	R	0,96	0,039	2E-04	0,105	R	274	0,4092	0,1871	0,1366	0,0953	0,0647	0,0431	0,0282	0,0181	0,0111	0,006	0,0007	0,0004
275	A	1	3E-04	0	0,105	A	275	0,8723	0,0886	0,0258	0,0086	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
276	K	0,996	0,004	0	0,105	K	276	0,7897	0,1159	0,0484	0,0229	0,0114	0,0059	0,0031	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004
277	I	1	2E-04	0	0,105	I	277	0,885	0,0827	0,0221	0,0068	0,0022	0,0008	0,0003	9E-05	3E-05	1E-05	0	0,0004
278	R	0,915	0,079	0,005	0,105	R	278	0,5871	0,1281	0,0796	0,056	0,0415	0,0316	0,0243	0,0186	0,0139	0,0091	0,0101	0,0004
279	T	0,996	0,004	1E-05	0,105	T	279	0,7932	0,1144	0,0473	0,0223	0,0112	0,0058	0,0031	0,0016	0,0009	0,0004	2E-05	0,0004
280	V	0,998	0,002	0	0,105	V	280	0,8226	0,1071	0,0398	0,0168	0,0075	0,0035	0,0016	0,0008	0,0004	0,0001	0	0,0004
281	K	0,996	0,004	0	0,105	K	281	0,7897	0,1159	0,0484	0,0229	0,0114	0,0059	0,0031	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004

TM6	282	M	0,999	5E-04	0	0,105	TM6	M	282	0,8552	0,0959	0,0307	0,0112	0,0043	0,0017	0,0007	0,0003	0,0001	4E-05	0	0,0004
	283	T	1	3E-04	0	0,105		T	283	0,8729	0,0884	0,0256	0,0085	0,003	0,0011	0,0004	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
	284	F	0,989	0,011	4E-05	0,105		F	284	0,7445	0,1236	0,0585	0,0315	0,018	0,0105	0,0063	0,0037	0,0022	0,0011	0,0001	0,0004
	285	V	1	2E-04	0	0,105		V	285	0,8773	0,0863	0,0243	0,0079	0,0027	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
	286	I	1	4E-04	0	0,105		I	286	0,8655	0,0913	0,0277	0,0097	0,0036	0,0014	0,0006	0,0002	9E-05	3E-05	0	0,0004
	287	V	0,998	0,002	0	0,105		V	287	0,8203	0,1077	0,0404	0,0172	0,0078	0,0036	0,0017	0,0008	0,0004	0,0002	0	0,0004
	288	L	0,994	0,006	1E-05	0,105		L	288	0,7765	0,1184	0,0515	0,0254	0,0133	0,0072	0,0039	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	289	A	1	2E-04	0	0,105		A	289	0,8743	0,0877	0,0252	0,0083	0,0029	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
	290	Y	0,997	0,003	0	0,105		Y	290	0,8049	0,1122	0,0445	0,02	0,0095	0,0047	0,0023	0,0011	0,0006	0,0002	1E-05	0,0004
	291	I	0,997	0,003	0	0,105		I	291	0,6002	0,1963	0,1029	0,0518	0,0256	0,0125	0,006	0,0028	0,0013	0,0005	1E-05	0,0004
	292	A	0,97	0,029	3E-04	0,105		A	292	0,6789	0,1296	0,0705	0,0434	0,0281	0,0188	0,0127	0,0085	0,0056	0,0032	0,0008	0,0004
	293	C	0,999	0,001	0	0,105		C	293	0,8269	0,1059	0,0386	0,016	0,007	0,0032	0,0014	0,0007	0,0003	0,0001	0	0,0004
	294	W	0,992	0,008	2E-05	0,105		W	294	0,7551	0,1225	0,0565	0,0295	0,0163	0,0092	0,0053	0,003	0,0017	0,0008	5E-05	0,0004
ECL3	295	A	0,832	0,163	0,005	0,105	ECL3	A	295	0,2617	0,147	0,1317	0,1125	0,0934	0,0758	0,0603	0,0468	0,0348	0,0224	0,0136	0,0004
	296	P	1	4E-04	0	0,105		P	296	0,8663	0,0911	0,0275	0,0095	0,0035	0,0013	0,0005	0,0002	8E-05	3E-05	0	0,0004
	297	F	1	3E-04	0	0,105		F	297	0,869	0,0902	0,0267	0,009	0,0032	0,0012	0,0005	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
	298	F	1	3E-04	0	0,105		F	298	0,869	0,0902	0,0267	0,009	0,0032	0,0012	0,0005	0,0002	6E-05	2E-05	0	0,0004
	299	S	0,831	0,165	0,004	0,105		S	299	0,2583	0,1466	0,1323	0,1136	0,0946	0,0769	0,0612	0,0474	0,0351	0,0225	0,0116	0,0004
	300	V	1	4E-04	0	0,105		V	300	0,8666	0,091	0,0274	0,0094	0,0035	0,0013	0,0005	0,0002	8E-05	3E-05	0	0,0004
	301	Q	0,994	0,006	1E-05	0,105		Q	301	0,7735	0,1192	0,0523	0,026	0,0137	0,0074	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
	302	M	2E-04	0,805	0,195	1		M	302	0	5E-05	0,001	0,0056	0,0177	0,0395	0,0693	0,1011	0,1257	0,1228	0,5172	2,4661
	303	W	6E-04	0,654	0,346	1		W	303	0	0,0001	0,0013	0,0055	0,0144	0,0284	0,0463	0,0652	0,0803	0,0795	0,679	2,4661
	304	S	0,993	0,007	1E-05	0,105		S	304	0,7601	0,1217	0,0554	0,0286	0,0156	0,0087	0,0049	0,0028	0,0015	0,0007	4E-05	0,0004
	305	V	0,964	0,036	1E-04	0,105		V	305	0,4183	0,1886	0,1359	0,0935	0,0627	0,0413	0,0267	0,0169	0,0103	0,0055	0,0006	0,0004
	306	W	0,823	0,174	0,003	0,105		W	306	0,2439	0,1442	0,1341	0,1174	0,0988	0,0807	0,0641	0,0493	0,0362	0,0229	0,0087	0,0004
	307	D	0,971	0,029	7E-05	0,105		D	307	0,4343	0,1917	0,1349	0,0906	0,0592	0,0378	0,0238	0,0146	0,0086	0,0044	0,0003	0,0004
308	K	0,686	0,31	0,004	0,105	K	308	0,0728	0,1074	0,1405	0,1471	0,1373	0,1191	0,0978	0,0764	0,0562	0,0352	0,0103	0,0481		
309	N	0,988	0,012	5E-05	0,105	N	309	0,7392	0,1244	0,0597	0,0325	0,0187	0,0111	0,0067	0,004	0,0024	0,0012	0,0001	0,0004		
310	A	0,998	0,002	0	0,105	A	310	0,8187	0,108	0,0408	0,0175	0,008	0,0038	0,0018	0,0009	0,0004	0,0002	0	0,0004		
311	P	0,303	0,608	0,089	1	P	311	0,0265	0,0476	0,0753	0,0953	0,1073	0,1121	0,1108	0,1039	0,0915	0,0683	0,1614	2,4661		
312	D	0,057	0,706	0,237	1	D	312	0,0018	0,0096	0,0251	0,0441	0,0633	0,0801	0,0926	0,0992	0,098	0,0808	0,4057	2,4661		
313	E	0,938	0,06	0,002	0,105	E	313	0,6175	0,1297	0,0776	0,0525	0,0375	0,0275	0,0204	0,015	0,0108	0,0068	0,0046	0,0004		

C- TERMINAL	TM7	314	D	0,952	0,047	0,001	0,105	D	314	0,64	0,1302	0,0754	0,0495	0,0342	0,0243	0,0174	0,0125	0,0087	0,0053	0,0025	0,0004
		315	S	0,998	0,002	0	0,105	S	315	0,8175	0,1085	0,0411	0,0177	0,0081	0,0038	0,0018	0,0009	0,0004	0,0002	0	0,0004
		316	T	0,998	0,002	0	0,105	T	316	0,8284	0,105	0,0381	0,0158	0,0069	0,0032	0,0015	0,0007	0,0003	0,0001	0	0,0004
		317	N	0,81	0,183	0,007	0,105	N	317	0,2477	0,142	0,1296	0,1127	0,0952	0,0786	0,0636	0,0501	0,0379	0,0248	0,0179	0,0004
		318	V	0,994	0,006	1E-05	0,105	V	318	0,776	0,1183	0,0515	0,0255	0,0134	0,0073	0,004	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
		319	A	0,955	0,044	0,001	0,105	A	319	0,646	0,1302	0,0747	0,0485	0,0333	0,0234	0,0167	0,0118	0,0082	0,005	0,0022	0,0004
		320	F	0,992	0,008	1E-05	0,105	F	320	0,5371	0,1994	0,1182	0,0671	0,0372	0,0203	0,0109	0,0057	0,0029	0,0013	4E-05	0,0004
		321	T	0,998	0,002	0	0,105	T	321	0,8284	0,105	0,0381	0,0158	0,0069	0,0032	0,0015	0,0007	0,0003	0,0001	0	0,0004
		322	I	0,999	0,001	0	0,105	I	322	0,8411	0,1007	0,0346	0,0136	0,0057	0,0025	0,0011	0,0005	0,0002	9E-05	0	0,0004
		323	S	0,983	0,017	3E-05	0,105	S	323	0,4781	0,1966	0,1291	0,081	0,0495	0,0297	0,0175	0,0101	0,0056	0,0027	0,0001	0,0004
		324	M	0,998	0,002	0	0,105	M	324	0,8096	0,1107	0,0432	0,0192	0,009	0,0044	0,0022	0,0011	0,0005	0,0002	1E-05	0,0004
		325	L	0,959	0,04	9E-04	0,105	L	325	0,6554	0,13	0,0735	0,047	0,0318	0,0221	0,0155	0,0109	0,0075	0,0045	0,0019	0,0004
		326	L	0,977	0,023	2E-04	0,105	L	326	0,6997	0,1283	0,067	0,0397	0,0248	0,016	0,0104	0,0068	0,0043	0,0024	0,0005	0,0004
		327	G	0,995	0,005	1E-05	0,105	G	327	0,7798	0,1176	0,0506	0,0248	0,0129	0,0069	0,0038	0,0021	0,0011	0,0005	3E-05	0,0004
		328	N	0,979	0,021	4E-05	0,105	N	328	0,4599	0,195	0,1319	0,0851	0,0535	0,0329	0,0199	0,0117	0,0067	0,0033	0,0002	0,0004
		329	L	0,998	0,002	0	0,105	L	329	0,8222	0,1067	0,0397	0,0169	0,0077	0,0036	0,0017	0,0008	0,0004	0,0002	1E-05	0,0004
		330	N	0,862	0,137	6E-04	0,105	N	330	0,1196	0,1525	0,1731	0,1577	0,1285	0,0977	0,0706	0,0487	0,0317	0,0177	0,0022	0,0208
		331	S	0,978	0,022	4E-05	0,105	S	331	0,4577	0,1945	0,132	0,0855	0,054	0,0334	0,0203	0,0121	0,0069	0,0035	0,0002	0,0004
		332	C	0,996	0,004	0	0,105	C	332	0,7918	0,1153	0,0478	0,0225	0,0112	0,0057	0,003	0,0016	0,0008	0,0004	1E-05	0,0004
		333	C	0,995	0,005	1E-05	0,105	C	333	0,7781	0,1182	0,0511	0,0251	0,013	0,007	0,0038	0,0021	0,0011	0,0005	3E-05	0,0004
334	N	0,893	0,106	3E-04	0,105	N	334	0,1327	0,1639	0,18	0,1586	0,1249	0,0916	0,0638	0,0424	0,0266	0,0143	0,0012	0,0208		
335	P	0,96	0,04	6E-05	0,105	P	335	0,1998	0,2086	0,1953	0,1479	0,1009	0,0647	0,0397	0,0234	0,0132	0,0064	0,0003	0,0059		
336	W	0	0,004	0,996	3,67	W	336	0	0	0	0	0	2E-05	7E-05	0,0002	0,0005	0,001	0,9982	2,4661		
337	I	0,955	0,045	3E-05	0,105	I	337	0,0725	0,1824	0,2289	0,195	0,1373	0,0863	0,0502	0,0274	0,0139	0,0061	0,0001	0,0208		
338	Y	0,998	0,002	0	0,105	Y	338	0,8181	0,1086	0,041	0,0176	0,0079	0,0037	0,0017	0,0008	0,0004	0,0002	0	0,0004		
339	M	0,996	0,004	0	0,105	M	339	0,5884	0,1982	0,1064	0,0547	0,0274	0,0135	0,0065	0,0031	0,0014	0,0006	1E-05	0,0004		
340	G	0,999	0,001	0	0,105	G	340	0,8342	0,1035	0,0366	0,0147	0,0063	0,0027	0,0012	0,0005	0,0002	9E-05	0	0,0004		
341	F	1	2E-04	0	0,105	F	341	0,8795	0,0855	0,0237	0,0075	0,0025	0,0009	0,0003	0,0001	4E-05	1E-05	0	0,0004		
342	N	0,999	9E-04	0	0,105	N	342	0,8402	0,1015	0,0349	0,0136	0,0056	0,0024	0,001	0,0005	0,0002	7E-05	0	0,0004		
343	S	0,999	6E-04	0	0,105	S	343	0,8508	0,0976	0,0319	0,0119	0,0047	0,0019	0,0008	0,0003	0,0001	5E-05	0	0,0004		
344	H	0,999	7E-04	0	0,105	H	344	0,8476	0,0987	0,0328	0,0124	0,005	0,0021	0,0009	0,0004	0,0002	6E-05	0	0,0004		
345	L	0,992	0,008	2E-05	0,105	L	345	0,7603	0,1214	0,0552	0,0285	0,0156	0,0088	0,005	0,0029	0,0016	0,0008	5E-05	0,0004		



346	L	0,806	0,188	0,007	0,105	L	346	0,2433	0,1407	0,1294	0,1133	0,0962	0,0798	0,0648	0,0512	0,0387	0,0254	0,0172	0,0004
347	P	0,978	0,022	4E-05	0,105	P	347	0,4565	0,1945	0,1322	0,0858	0,0542	0,0336	0,0204	0,0121	0,0069	0,0035	0,0002	0,0004
348	R	0,858	0,142	7E-04	0,105	R	348	0,1191	0,1515	0,1719	0,1569	0,1283	0,098	0,0712	0,0495	0,0326	0,0184	0,0026	0,0208
349	P	1	3E-04	0	0,105	P	349	0,8698	0,0896	0,0265	0,009	0,0032	0,0012	0,0005	0,0002	7E-05	2E-05	0	0,0004
350	L	0,994	0,006	1E-05	0,105	L	350	0,7742	0,1188	0,052	0,0259	0,0136	0,0074	0,0041	0,0022	0,0012	0,0006	3E-05	0,0004
351	R	0,382	0,571	0,047	1	R	351	0,0344	0,0595	0,0908	0,1107	0,1201	0,121	0,1153	0,1043	0,0886	0,0638	0,0916	0,1516
352	H	0,983	0,017	2E-05	0,105	H	352	0,471	0,1969	0,1309	0,0829	0,0509	0,0306	0,018	0,0103	0,0057	0,0027	0,0001	0,0004
353	L	0,971	0,028	3E-04	0,105	L	353	0,6821	0,1294	0,0699	0,0428	0,0276	0,0183	0,0123	0,0083	0,0054	0,0031	0,0008	0,0004
354	A	1	2E-04	0	0,105	A	354	0,8743	0,0877	0,0252	0,0083	0,0029	0,001	0,0004	0,0001	5E-05	2E-05	0	0,0004
355	C	0,999	0,001	0	0,105	C	355	0,8347	0,1034	0,0364	0,0146	0,0062	0,0027	0,0012	0,0005	0,0002	9E-05	0	0,0004
356	C	0,993	0,007	1E-05	0,105	C	356	0,7665	0,1203	0,0538	0,0273	0,0147	0,0081	0,0046	0,0026	0,0014	0,0007	4E-05	0,0004
357	G	0,075	0,899	0,026	1	G	357	0,001	0,0126	0,0431	0,0827	0,1195	0,1449	0,1554	0,1511	0,133	0,0963	0,0603	0,2358
358	G	0,055	0,709	0,236	1	G	358	0,0017	0,0093	0,0244	0,0432	0,0623	0,0792	0,0919	0,0989	0,098	0,0811	0,41	2,4661
359	P	0,986	0,014	1E-05	0,105	P	359	0,2657	0,242	0,1975	0,1304	0,0776	0,0433	0,0232	0,0119	0,0058	0,0025	5E-05	0,0004
360	Q	0,209	0,77	0,021	1	Q	360	0,0068	0,0314	0,0712	0,1078	0,133	0,1444	0,1429	0,1308	0,1102	0,0773	0,0444	0,1516
361	P	0,962	0,038	4E-05	0,105	P	361	0,1945	0,2074	0,1971	0,1505	0,1029	0,0657	0,0399	0,0232	0,0127	0,006	0,0002	0,0059
362	R	0,052	0,898	0,05	1	R	362	0,0007	0,0096	0,0342	0,0688	0,1038	0,1315	0,1474	0,1496	0,1376	0,1041	0,1127	0,3501
363	M	0,945	0,055	7E-05	0,105	M	363	0,1678	0,1909	0,193	0,1562	0,1129	0,0759	0,0484	0,0294	0,0168	0,0083	0,0004	0,0208
364	R	0,925	0,074	1E-04	0,105	R	364	0,1521	0,1793	0,1878	0,1578	0,1185	0,0828	0,0549	0,0348	0,0208	0,0106	0,0006	0,0208
365	R	0,596	0,396	0,007	0,105	R	365	0,0582	0,0919	0,1275	0,1408	0,1379	0,125	0,1069	0,0866	0,0659	0,0426	0,0166	0,0481
366	R	0,357	0,635	0,008	1	R	366	0,0115	0,0478	0,0974	0,1336	0,1499	0,1485	0,1347	0,1135	0,0882	0,0574	0,0175	0,0906
367	L	0,997	0,003	0	0,105	L	367	0,6138	0,1953	0,0994	0,0485	0,0232	0,0109	0,0051	0,0023	0,001	0,0004	1E-05	0,0004
368	S	0,925	0,075	1E-04	0,105	S	368	0,145	0,1765	0,1891	0,161	0,1215	0,0848	0,0559	0,0349	0,0205	0,0103	0,0005	0,0208
369	D	0,022	0,954	0,024	1	D	369	0,0001	0,0046	0,0239	0,0594	0,1019	0,1396	0,1634	0,1693	0,156	0,1164	0,0653	0,3501
370	G	0,006	0,969	0,025	1	G	370	2E-05	0,0015	0,0121	0,0392	0,0807	0,1262	0,1631	0,182	0,1774	0,1379	0,08	0,3501
371	S	0,964	0,035	3E-05	0,105	S	371	0,1957	0,2087	0,198	0,1507	0,1025	0,065	0,0391	0,0224	0,0122	0,0057	0,0002	0,0059
372	L	0,976	0,024	2E-05	0,105	L	372	0,2231	0,2232	0,1993	0,1433	0,0924	0,0557	0,032	0,0176	0,0092	0,0041	0,0001	0,0059
373	S	0,278	0,71	0,012	1	S	373	0,0089	0,0391	0,0844	0,1218	0,1434	0,1485	0,1403	0,1228	0,0989	0,0665	0,0255	0,1516
374	S	0,775	0,225	4E-04	0,105	S	374	0,0324	0,1052	0,1689	0,183	0,163	0,1288	0,0934	0,0632	0,0397	0,021	0,0014	0,0481
375	R	0,927	0,073	1E-04	0,105	R	375	0,1551	0,1811	0,1882	0,1571	0,1173	0,0817	0,054	0,0341	0,0204	0,0104	0,0007	0,0208
376	H	0,316	0,681	0,003	1	H	376	0,0035	0,0347	0,0943	0,1451	0,1683	0,1645	0,1427	0,1125	0,0807	0,048	0,0058	0,0906
377	T	0,981	0,019	1E-05	0,105	T	377	0,2364	0,2305	0,2005	0,14	0,0875	0,051	0,0283	0,015	0,0075	0,0032	7E-05	0,0004

378	T	0,782	0,217	0,001	0,105	T	378	0,0923	0,128	0,1573	0,1548	0,1358	0,1107	0,0854	0,0627	0,0433	0,0255	0,0042	0,0208
379	L	0,802	0,197	0,001	0,105	L	379	0,0976	0,133	0,1608	0,1557	0,1345	0,1081	0,0823	0,0597	0,0408	0,0238	0,0038	0,0208
380	L	0,806	0,193	0,001	0,105	L	380	0,0988	0,134	0,1614	0,1558	0,1341	0,1075	0,0817	0,0591	0,0403	0,0235	0,0037	0,0208
381	T	0,882	0,118	1E-04	0,105	T	381	0,0457	0,1348	0,1971	0,1942	0,1571	0,1126	0,0742	0,0455	0,0259	0,0125	0,0005	0,0208
382	R	0,75	0,25	5E-04	0,105	R	382	0,0302	0,0998	0,1635	0,1805	0,1636	0,1315	0,0971	0,0668	0,0426	0,0229	0,0017	0,0481
383	S	0,078	0,917	0,005	1	S	383	0,0004	0,0107	0,0476	0,1003	0,146	0,1699	0,1694	0,1497	0,1179	0,0756	0,0126	0,1516
384	S	0,813	0,186	3E-04	0,105	S	384	0,0358	0,1134	0,1776	0,1874	0,1623	0,1246	0,0877	0,0575	0,0349	0,0179	0,0009	0,0481
385	C	0,993	0,007	0	0,105	C	385	0,5388	0,2001	0,1183	0,0668	0,0366	0,0197	0,0104	0,0054	0,0027	0,0012	3E-05	0,0004
386	P	0,694	0,306	8E-04	0,105	P	386	0,0263	0,0901	0,1526	0,1744	0,1637	0,1362	0,1041	0,0741	0,0489	0,0272	0,0025	0,0481
387	A	0,131	0,866	0,003	1	A	387	0,0006	0,015	0,0614	0,1196	0,1616	0,1751	0,1631	0,1352	0,1002	0,0607	0,0075	0,1516
388	T	0,997	0,003	0	0,105	T	388	0,5972	0,1976	0,1042	0,0525	0,0258	0,0124	0,0059	0,0027	0,0012	0,0005	1E-05	0,0004
389	L	0,933	0,067	5E-05	0,105	L	389	0,0613	0,1636	0,2174	0,1958	0,1457	0,0966	0,0591	0,0339	0,0182	0,0083	0,0002	0,0208
390	S	0,78	0,219	4E-04	0,105	S	390	0,0328	0,1061	0,17	0,1837	0,163	0,1283	0,0927	0,0625	0,0391	0,0206	0,0013	0,0481
391	L	1	4E-04	0	0,105	L	391	0,8689	0,0899	0,0267	0,0091	0,0033	0,0013	0,0005	0,0002	8E-05	3E-05	0	0,0004
392	S	0,83	0,17	2E-04	0,105	S	392	0,0377	0,1177	0,1817	0,1891	0,1615	0,1222	0,0849	0,0549	0,0329	0,0167	0,0008	0,0481
393	L	1	4E-04	0	0,105	L	393	0,8681	0,0903	0,027	0,0092	0,0034	0,0013	0,0005	0,0002	8E-05	3E-05	0	0,0004
394	S	0,993	0,007	0	0,105	S	394	0,5454	0,1998	0,1167	0,0652	0,0354	0,0189	0,0099	0,0051	0,0025	0,0011	3E-05	0,0004
395	L	0,001	0,292	0,707	3,67	L	395	1E-05	0,0003	0,0017	0,005	0,0103	0,0173	0,0249	0,0321	0,0372	0,0354	0,8359	2,4661
396	T	0,995	0,005	0	0,105	T	396	0,5652	0,1991	0,112	0,0603	0,0317	0,0164	0,0083	0,0042	0,002	0,0008	2E-05	0,0004
397	L	0,689	0,31	0,001	0,105	L	397	0,0265	0,0902	0,152	0,1732	0,1625	0,1355	0,1041	0,0748	0,0499	0,0282	0,0032	0,0481
398	S	0,966	0,033	5E-04	0,105	S	398	0,6697	0,1299	0,0718	0,0449	0,0296	0,0201	0,0138	0,0094	0,0063	0,0037	0,0011	0,0004
399	G	0,977	0,023	2E-04	0,105	G	399	0,6971	0,1286	0,0676	0,0402	0,0253	0,0163	0,0107	0,0069	0,0044	0,0025	0,0005	0,0004
400	R	0,11	0,793	0,097	1	R	400	0,0037	0,0183	0,0447	0,0733	0,0982	0,116	0,1253	0,1255	0,1159	0,0893	0,1899	2,4661
401	P	0,278	0,707	0,015	1	P	401	0,0089	0,0394	0,0847	0,1217	0,1426	0,1472	0,1389	0,1215	0,098	0,0662	0,031	0,1516
402	R	0,052	0,669	0,279	1	R	402	0,0017	0,0091	0,0236	0,0412	0,0589	0,0745	0,0864	0,093	0,0924	0,0768	0,4422	2,4661
403	P	0,981	0,019	2E-04	0,105	P	403	0,7173	0,1261	0,0635	0,0364	0,0222	0,0139	0,0089	0,0057	0,0036	0,002	0,0004	0,0004
404	E	6E-04	0,299	0,7	3,67	E	404	0	0,0001	0,0008	0,0027	0,0063	0,0117	0,0186	0,0263	0,0329	0,0335	0,8672	2,4661
405	E	0,016	0,815	0,169	1	E	405	0,0002	0,0033	0,0136	0,0319	0,0555	0,0807	0,1029	0,1184	0,1227	0,1044	0,3665	2,4661
406	S	0,233	0,608	0,159	1	S	406	0,0196	0,0365	0,0598	0,0782	0,0911	0,0984	0,1005	0,0975	0,0888	0,0686	0,261	2,4661
407	P	0,002	0,295	0,703	3,67	P	407	2E-05	0,0004	0,0018	0,0047	0,0093	0,0152	0,0221	0,029	0,0344	0,0336	0,8497	2,4661
408	R	0,138	0,802	0,06	1	R	408	0,0047	0,0228	0,054	0,086	0,112	0,1285	0,1348	0,1311	0,1174	0,0878	0,1209	0,2358
409	D	0,065	0,902	0,033	1	D	409	0,0009	0,0115	0,04	0,0781	0,1146	0,1411	0,1537	0,1517	0,1355	0,0996	0,0734	0,2358

<b>410</b>	<b>L</b>	0,459	0,51	0,031	1	<b>L</b>	<b>410</b>	0,0428	0,0708	0,1037	0,1215	0,1268	0,123	0,113	0,0987	0,0811	0,0567	0,062	0,0906
<b>411</b>	<b>E</b>	0,99	0,01	3E-05	0,105	<b>E</b>	<b>411</b>	0,7453	0,1238	0,0585	0,0314	0,0178	0,0103	0,0061	0,0036	0,0021	0,0011	9E-05	0,0004
<b>412</b>	<b>L</b>	0,124	0,798	0,078	1	<b>L</b>	<b>412</b>	0,0042	0,0206	0,0496	0,08	0,1055	0,1227	0,1304	0,1285	0,1167	0,0885	0,1533	2,4661
<b>413</b>	<b>A</b>	0,06	0,878	0,061	1	<b>A</b>	<b>413</b>	0,0009	0,0107	0,0368	0,0718	0,1056	0,1309	0,144	0,144	0,1309	0,0982	0,1263	0,2358
<b>414</b>	<b>D</b>	0,955	0,045	1E-03	0,105	<b>D</b>	<b>414</b>	0,6455	0,1302	0,0748	0,0486	0,0334	0,0235	0,0167	0,0119	0,0082	0,005	0,0022	0,0004
<b>415</b>	<b>G</b>	0,603	0,388	0,009	0,105	<b>G</b>	<b>415</b>	0,0604	0,093	0,127	0,1388	0,1354	0,1227	0,1054	0,0861	0,0663	0,0434	0,0215	0,0481
<b>416</b>	<b>E</b>	0,944	0,054	0,002	0,105	<b>E</b>	<b>416</b>	0,6276	0,13	0,0767	0,0512	0,036	0,026	0,019	0,0139	0,0099	0,0062	0,0037	0,0004
<b>417</b>	<b>G</b>	0,989	0,011	1E-05	0,105	<b>G</b>	<b>417</b>	0,5198	0,1983	0,1212	0,0711	0,0408	0,0231	0,0129	0,0071	0,0038	0,0018	8E-05	0,0004
<b>418</b>	<b>T</b>	0,989	0,011	1E-05	0,105	<b>T</b>	<b>418</b>	0,5196	0,1988	0,1216	0,0713	0,0408	0,023	0,0127	0,0069	0,0036	0,0017	7E-05	0,0004
<b>419</b>	<b>A</b>	4E-04	0,238	0,761	3,67	<b>A</b>	<b>419</b>	0	8E-05	0,0006	0,002	0,0048	0,0092	0,0148	0,0212	0,0269	0,0278	0,8926	2,4661
<b>420</b>	<b>E</b>	0,933	0,066	4E-04	0,105	<b>E</b>	<b>420</b>	0,3553	0,1763	0,1393	0,1049	0,0766	0,0548	0,0383	0,0262	0,0171	0,0097	0,0016	0,0004
<b>421</b>	<b>T</b>	0,998	0,002	0	0,105	<b>T</b>	<b>421</b>	0,8197	0,1076	0,0404	0,0173	0,0079	0,0037	0,0018	0,0009	0,0004	0,0002	0	0,0004
<b>422</b>	<b>I</b>	0,165	0,825	0,01	1	<b>I</b>	<b>422</b>	0,002	0,0222	0,067	0,1144	0,1472	0,1597	0,1537	0,1347	0,1073	0,0707	0,0212	0,1516
<b>423</b>	<b>I</b>	0,993	0,007	1E-05	0,105	<b>I</b>	<b>423</b>	0,5537	0,1986	0,1142	0,063	0,0341	0,0182	0,0096	0,005	0,0025	0,0011	4E-05	0,0004
<b>424</b>	<b>F</b>	0,968	0,031	4E-04	0,105	<b>F</b>	<b>424</b>	0,6745	0,1298	0,0711	0,0441	0,0288	0,0194	0,0132	0,0089	0,0059	0,0034	0,0009	0,0004

APÊNDICE B – Resultados do teste *Branch-Site* para o AVPR1b (Análise BEB)

		B-Site			
		Clac C_NWM			
N	AA	$\omega_0$	$\omega_1$	$\omega_2$	$\omega$
1	M	0,99566	0,00419	0,00015	0,1022
2	D	0,79811	0,19281	0,00908	0,1022
3	S	0,07996	0,91912	0,00092	1
4	G	0,10578	0,16142	0,73279	7,47939
5	P	0,35126	0,58581	0,06293	1
6	L	0,66028	0,33814	0,00158	0,1022
7	W	0,00096	0,98283	0,01621	1
8	D	0,00005	0,92327	0,07668	1
9	A	0,86518	0,13333	0,00149	0,1022
10	N	0,33692	0,66161	0,00146	1
11	P	0,65544	0,08037	0,2642	0,1022
12	T	0,97299	0,02553	0,00148	0,1022
13	P	0,01562	0,05109	0,93329	7,47939
14	R	0,00372	0,99622	0,00006	1
15	G	0,99233	0,00742	0,00025	0,1022
16	T	0,99947	0,00037	0,00016	0,1022
17	L	0,99487	0,00294	0,00218	0,1022
18	S	0,74222	0,24896	0,00882	0,1022
19	A	0,49312	0,31077	0,19611	0,1022
20	P	0,85396	0,12002	0,02602	0,1022
21	N	0,95649	0,03367	0,00984	0,1022
22	A	0,99606	0,00388	0,00006	0,1022
23	T	0,94775	0,0353	0,01695	0,1022
24	T	0,72512	0,2627	0,01218	0,1022
25	P	0,97764	0,02229	0,00007	0,1022
26	W	0,90426	0,05346	0,04227	0,1022
27	L	0,99076	0,00766	0,00158	0,1022
28	G	0,99849	0,00125	0,00026	0,1022
29	R	0,99171	0,00647	0,00181	0,1022
30	D	0,95494	0,03493	0,01012	0,1022
31	E	0,99512	0,00385	0,00103	0,1022
32	E	0,99507	0,00391	0,00103	0,1022
33	L	0,95862	0,03183	0,00956	0,1022
34	A	0,99969	0,00026	0,00006	0,1022
35	K	0,96758	0,03121	0,00121	0,1022
36	V	0,9868	0,01277	0,00043	0,1022
37	E	0,99493	0,00395	0,00112	0,1022
38	I	0,99747	0,00154	0,00099	0,1022
39	G	0,21154	0,78342	0,00503	1

N-TERMINAL

TM1

	40	V	0,99969	0,00026	0,00005	0,1022
	41	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	42	A	0,99962	0,00032	0,00006	0,1022
	43	T	0,50094	0,49451	0,00456	0,1022
	44	V	0,99971	0,00024	0,00005	0,1022
	45	L	0,99137	0,00682	0,00181	0,1022
	46	V	0,55003	0,4497	0,00027	0,1022
	47	L	0,76281	0,23579	0,0014	0,1022
	48	A	0,99967	0,00027	0,00006	0,1022
	49	T	0,95848	0,04143	0,00009	0,1022
	50	G	0,99279	0,0059	0,00131	0,1022
	51	G	0,99875	0,00098	0,00027	0,1022
	52	N	0,99899	0,00081	0,0002	0,1022
	53	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	54	A	0,97983	0,01082	0,00936	0,1022
	55	V	0,99777	0,00179	0,00044	0,1022
	56	L	0,99286	0,00557	0,00157	0,1022
	57	L	0,96478	0,01436	0,02086	0,1022
	58	T	0,97496	0,02345	0,00159	0,1022
	59	L	0,9906	0,0078	0,0016	0,1022
	60	G	0,99885	0,00092	0,00023	0,1022
	61	Q	0,93581	0,03957	0,02462	0,1022
	62	L	0,00142	0,99847	0,00012	1
	63	G	0,99887	0,00091	0,00022	0,1022
	64	R	0,99196	0,0078	0,00024	0,1022
ICL1	65	K	0,99478	0,00411	0,0011	0,1022
	66	R	0,99885	0,00092	0,00022	0,1022
	67	S	0,99948	0,00043	0,00009	0,1022
	68	R	0,99888	0,00091	0,00021	0,1022
	69	M	0,99932	0,00055	0,00013	0,1022
	70	H	0,99932	0,00055	0,00013	0,1022
	71	L	0,992	0,00632	0,00168	0,1022
	72	F	0,99914	0,00082	0,00004	0,1022
	73	V	0,88974	0,09943	0,01083	0,1022
	74	L	0,99211	0,00632	0,00157	0,1022
	75	H	0,99932	0,00055	0,00013	0,1022
	76	L	0,94411	0,03378	0,02211	0,1022
	77	A	0,9995	0,00036	0,00014	0,1022
TM2	78	L	0,99223	0,0062	0,00157	0,1022
	79	T	0,97834	0,00445	0,01721	0,1022
	80	D	0,99888	0,00086	0,00026	0,1022
	81	L	0,99218	0,00625	0,00157	0,1022
	82	A	0,99383	0,0061	0,00007	0,1022
	83	V	0,98696	0,01255	0,00049	0,1022
	84	A	0,99759	0,00193	0,00048	0,1022
	85	L	0,99739	0,00254	0,00007	0,1022

	86	F	0,9997	0,00026	0,00004	0,1022
	87	Q	0,9939	0,00485	0,00125	0,1022
	88	V	0,99907	0,00088	0,00006	0,1022
	89	L	0,99223	0,0062	0,00157	0,1022
	90	P	0,99967	0,00028	0,00005	0,1022
	91	Q	0,99407	0,00467	0,00125	0,1022
	92	L	0,9567	0,04159	0,0017	0,1022
	93	L	0,93925	0,0369	0,02385	0,1022
	94	W	0,99006	0,00779	0,00215	0,1022
	95	D	0,99906	0,00075	0,00019	0,1022
	96	I	0,99977	0,00019	0,00004	0,1022
	97	T	0,99958	0,00036	0,00006	0,1022
	98	Y	0,99057	0,00768	0,00175	0,1022
	99	R	0,99778	0,00183	0,0004	0,1022
	100	F	0,99978	0,00018	0,00004	0,1022
ECL1	101	Q	0,3623	0,63721	0,00049	1
	102	G	0,99871	0,00107	0,00022	0,1022
	103	P	0,98692	0,01209	0,001	0,1022
	104	D	0,99906	0,00075	0,00019	0,1022
	105	L	0,99647	0,00222	0,00132	0,1022
	106	L	0,99653	0,00166	0,00181	0,1022
	107	C	0,98748	0,0073	0,00522	0,1022
	108	R	0,94418	0,05346	0,00236	0,1022
	109	A	0,71651	0,27595	0,00754	0,1022
	110	V	0,99838	0,00156	0,00006	0,1022
	111	K	0,99478	0,00411	0,0011	0,1022
	112	Y	0,99751	0,00196	0,00053	0,1022
	113	L	0,99208	0,00626	0,00166	0,1022
	114	Q	0,99295	0,00561	0,00145	0,1022
	115	V	0,7469	0,25271	0,00039	0,1022
	116	L	0,99961	0,00032	0,00007	0,1022
	117	S	0,9992	0,00065	0,00015	0,1022
	118	M	0,99322	0,00403	0,00275	0,1022
TM3	119	F	0,99959	0,0003	0,00011	0,1022
	120	A	0,99969	0,00026	0,00006	0,1022
	121	S	0,99942	0,00047	0,00011	0,1022
	122	T	0,99968	0,00027	0,00006	0,1022
	123	Y	0,99766	0,00185	0,00049	0,1022
	124	M	0,99932	0,00055	0,00013	0,1022
	125	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	126	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	127	A	0,99969	0,00026	0,00006	0,1022
	128	M	0,99932	0,00055	0,00013	0,1022
	129	T	0,99505	0,00445	0,00005	0,1022
	130	L	0,92684	0,04287	0,03029	0,1022
ICL2	131	D	0,99897	0,00085	0,00019	0,1022

	132	R	0,99875	0,00104	0,00021	0,1022
	133	Y	0,99766	0,00185	0,00049	0,1022
	134	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	135	A	0,97266	0,01801	0,00933	0,1022
	136	V	0,9971	0,00179	0,00111	0,1022
	137	C	0,95792	0,0302	0,01188	0,1022
	138	H	0,99932	0,00055	0,00013	0,1022
	139	P	0,99962	0,00032	0,00005	0,1022
	140	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	141	R	0,99888	0,00091	0,00021	0,1022
	142	S	0,99207	0,00474	0,00319	0,1022
	143	L	0,99714	0,0028	0,00007	0,1022
	144	Q	0,80558	0,19321	0,00121	0,1022
	145	Q	0,5845	0,13447	0,28104	0,1022
	146	P	0,99948	0,00039	0,00013	0,1022
	147	G	0,0016	0,95409	0,04431	1
	148	Q	0,99311	0,00563	0,00126	0,1022
	149	S	0,36968	0,32682	0,30349	0,1022
	150	T	0,97534	0,02304	0,00162	0,1022
	151	Y	0,64038	0,16591	0,19371	0,1022
	152	L	0,014	0,87816	0,10784	1
	153	L	0,94145	0,019	0,03956	0,1022
	154	I	0,99969	0,00027	0,00004	0,1022
	155	A	0,95877	0,03198	0,00925	0,1022
	156	A	0,4113	0,58461	0,0041	1
	157	P	0,9997	0,00025	0,00005	0,1022
	158	W	0,99006	0,00779	0,00215	0,1022
	159	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	160	L	0,99204	0,00639	0,00157	0,1022
	161	A	0,99825	0,00169	0,00006	0,1022
TM4	162	A	0,99762	0,00232	0,00006	0,1022
	163	I	0,98278	0,01717	0,00005	0,1022
	164	F	0,97634	0,02213	0,00153	0,1022
	165	S	0,9992	0,00065	0,00015	0,1022
	166	L	0,99623	0,00371	0,00007	0,1022
	167	P	0,98691	0,01249	0,0006	0,1022
	168	Q	0	0,00408	0,99592	7,47939
	169	V	0,99721	0,00178	0,001	0,1022
	170	F	0,99978	0,00018	0,00004	0,1022
	171	I	0,97377	0,02039	0,00584	0,1022
	172	F	0,96993	0,02336	0,00671	0,1022
	173	S	0,97318	0,01668	0,01014	0,1022
	174	L	0,95987	0,01909	0,02104	0,1022
ECL2	175	R	0,39957	0,07234	0,52809	7,47939
	176	E	0,97153	0,00974	0,01873	0,1022
	177	V	0,97854	0,00626	0,0152	0,1022

	178	I	0,1523	0,3179	0,52979	7,47939
	179	Q	0,87717	0,1033	0,01954	0,1022
	180	G	0,98388	0,00343	0,01268	0,1022
	181	S	0,96904	0,01178	0,01917	0,1022
	182	G	0,9688	0,01145	0,01974	0,1022
	183	V	0,9791	0,00571	0,01519	0,1022
	184	L	0,96458	0,01436	0,02106	0,1022
	185	D	0,985	0,00292	0,01208	0,1022
	186	C	0,9834	0,00357	0,01304	0,1022
	187	W	0,96108	0,01637	0,02255	0,1022
	188	A	0,90859	0,0542	0,0372	0,1022
	189	D	0,98462	0,0033	0,01208	0,1022
	190	F	0,99079	0,00102	0,00819	0,1022
	191	G	0,48832	0,50492	0,00677	1
	192	F	0,99061	0,0012	0,00819	0,1022
	193	P	0,96238	0,00503	0,0326	0,1022
	194	W	0,96108	0,01637	0,02255	0,1022
	195	G	0,96807	0,0122	0,01974	0,1022
	196	P	0,05106	0,9468	0,00215	1
	197	R	0,97853	0,01153	0,00994	0,1022
	198	A	0,91562	0,04527	0,03911	0,1022
	199	Y	0,03006	0,03562	0,93432	7,47939
	200	L	0,98896	0,00887	0,00218	0,1022
	201	T	0,99704	0,00105	0,00191	0,1022
	202	W	0,97584	0,01313	0,01103	0,1022
	203	T	0,99724	0,00085	0,00191	0,1022
	204	T	0,991	0,00656	0,00243	0,1022
	205	L	0,91545	0,07473	0,00983	0,1022
	206	A	0,99528	0,00244	0,00228	0,1022
	207	I	0,9944	0,00402	0,00157	0,1022
	208	F	0,99357	0,0048	0,00163	0,1022
	209	V	0,41757	0,18462	0,39781	0,1022
	210	L	0,9827	0,01012	0,00718	0,1022
	211	P	0,97057	0,01266	0,01677	0,1022
	212	V	0,99777	0,00179	0,00044	0,1022
	213	T	0,97572	0,02183	0,00245	0,1022
	214	M	0,94476	0,01051	0,04473	0,1022
	215	L	0,9996	0,00034	0,00006	0,1022
	216	T	0,99578	0,00307	0,00115	0,1022
	217	A	0,98296	0,0155	0,00154	0,1022
	218	C	0,99876	0,00099	0,00025	0,1022
	219	Y	0,99766	0,00185	0,00049	0,1022
	220	S	0,95779	0,03838	0,00383	0,1022
	221	L	0,99964	0,0003	0,00006	0,1022
	222	I	0,73577	0,04442	0,21981	0,1022
ICL3	223	C	0,99854	0,00111	0,00035	0,1022



224	H	0,2212	0,04631	0,73248	7,47939
225	E	0,71733	0,28182	0,00085	0,1022
226	I	0,99977	0,00019	0,00003	0,1022
227	C	0,65657	0,19333	0,1501	0,1022
228	K	0,94846	0,03669	0,01485	0,1022
229	N	0,99882	0,00095	0,00023	0,1022
230	L	0,99353	0,0064	0,00007	0,1022
231	K	0,93514	0,05019	0,01468	0,1022
232	V	0,98049	0,01815	0,00135	0,1022
233	K	0,99478	0,00411	0,0011	0,1022
234	T	0,69043	0,29657	0,013	0,1022
235	Q	0,7968	0,20201	0,00119	0,1022
236	A	0,99949	0,00045	0,00006	0,1022
237	W	0,90762	0,05257	0,0398	0,1022
238	R	0,53394	0,1644	0,30166	0,1022
239	V	0,29667	0,67983	0,0235	1
240	G	0,00759	0,9922	0,00021	1
241	G	0,62816	0,35646	0,01538	0,1022
242	G	0,00154	0,73451	0,26395	1
243	G	0,06484	0,93113	0,00402	1
244	W	0,99006	0,00779	0,00215	0,1022
245	R	0,78833	0,1653	0,04637	0,1022
246	T	0,67773	0,28307	0,0392	0,1022
247	W	0,85324	0,09615	0,0506	0,1022
248	D	0,35812	0,62142	0,02046	1
249	R	0,61904	0,37174	0,00922	0,1022
250	P	0,12651	0,86283	0,01065	1
251	S	0,91413	0,06635	0,01952	0,1022
252	P	0,80853	0,1834	0,00807	0,1022
253	S	0,20055	0,79358	0,00587	1
254	T	0,84228	0,15617	0,00155	0,1022
255	L	0,05784	0,92893	0,01323	1
256	A	0,02803	0,96882	0,00316	1
257	A	0,80935	0,19047	0,00018	0,1022
258	T	0,98048	0,0194	0,00012	0,1022
259	T	0,3153	0,68155	0,00315	1
260	R	0,00997	0,99	0,00002	1
261	G	0,99374	0,00492	0,00134	0,1022
262	L	0,95448	0,04375	0,00177	0,1022
263	P	0,33539	0,55518	0,10943	1
264	S	0,99135	0,00638	0,00227	0,1022
265	R	0,9124	0,04683	0,04077	0,1022
266	V	0,99964	0,00031	0,00005	0,1022
267	S	0,999	0,00082	0,00018	0,1022
268	S	0,99175	0,00492	0,00334	0,1022
269	I	0,98507	0,01488	0,00005	0,1022

	270	N	0,692	0,30414	0,00386	0,1022
	271	T	0,99968	0,00027	0,00006	0,1022
	272	I	0,9998	0,00016	0,00003	0,1022
	273	S	0,92687	0,05337	0,01976	0,1022
	274	R	0,94988	0,04836	0,00176	0,1022
	275	A	0,99964	0,00028	0,00007	0,1022
	276	K	0,99478	0,00411	0,0011	0,1022
	277	I	0,99981	0,00016	0,00003	0,1022
	278	R	0,88601	0,08792	0,02607	0,1022
	279	T	0,97901	0,00381	0,01718	0,1022
	280	V	0,99777	0,00179	0,00044	0,1022
	281	K	0,99478	0,00411	0,0011	0,1022
	282	M	0,99932	0,00055	0,00013	0,1022
	283	T	0,99967	0,00027	0,00006	0,1022
	284	F	0,98178	0,01148	0,00675	0,1022
	285	V	0,99971	0,00024	0,00005	0,1022
	286	I	0,9995	0,00047	0,00003	0,1022
	287	V	0,99764	0,00192	0,00044	0,1022
	288	L	0,99224	0,00618	0,00157	0,1022
	289	A	0,99969	0,00026	0,00006	0,1022
	290	Y	0,9967	0,00281	0,00049	0,1022
	291	I	0,98947	0,00405	0,00647	0,1022
	292	A	0,95611	0,03212	0,01177	0,1022
TM6	293	C	0,99803	0,00143	0,00054	0,1022
	294	W	0,98789	0,00888	0,00323	0,1022
	295	A	0,68462	0,15806	0,15732	0,1022
	296	P	0,99939	0,0004	0,00021	0,1022
	297	F	0,99953	0,00029	0,00018	0,1022
	298	F	0,99953	0,00029	0,00018	0,1022
	299	S	0,79992	0,18833	0,01175	0,1022
	300	V	0,99941	0,00039	0,00021	0,1022
	301	Q	0,99129	0,006	0,00271	0,1022
	302	M	0	0,00014	0,99986	7,47939
	303	W	0	0,00292	0,99708	7,47939
	304	S	0,98986	0,00858	0,00156	0,1022
	305	V	0,76851	0,03033	0,20116	0,1022
	306	W	0,35635	0,07874	0,56491	7,47939
	307	D	0,76859	0,02346	0,20795	0,1022
	308	K	0,65768	0,32846	0,01387	0,1022
ECL3	309	N	0,9547	0,01129	0,03401	0,1022
	310	A	0,98915	0,00186	0,00899	0,1022
	311	P	0,06774	0,14585	0,78641	7,47939
	312	D	0,06638	0,88993	0,04369	1
	313	E	0,90103	0,06356	0,03541	0,1022
	314	D	0,91755	0,04966	0,03279	0,1022
	315	S	0,98813	0,00178	0,01008	0,1022

	316	T	0,98955	0,0014	0,00905	0,1022
	317	N	0,77301	0,19738	0,02962	0,1022
	318	V	0,97914	0,00567	0,01519	0,1022
	319	A	0,92129	0,04657	0,03214	0,1022
	320	F	0,83191	0,0068	0,16129	0,1022
	321	T	0,98955	0,0014	0,00905	0,1022
	322	I	0,99124	0,00096	0,00781	0,1022
	323	S	0,80851	0,01462	0,17687	0,1022
	324	M	0,98661	0,00233	0,01107	0,1022
	325	L	0,92581	0,04203	0,03216	0,1022
	326	L	0,95105	0,02284	0,0261	0,1022
	327	G	0,98203	0,00528	0,0127	0,1022
	328	N	0,96434	0,0223	0,01336	0,1022
	329	L	0,98891	0,00187	0,00922	0,1022
	330	N	0,83301	0,1498	0,01719	0,1022
TM7	331	S	0,96377	0,02369	0,01253	0,1022
	332	C	0,9834	0,00357	0,01304	0,1022
	333	C	0,9647	0,00467	0,03063	0,1022
	334	N	0,28347	0,03379	0,68274	7,47939
	335	P	0,51746	0,02265	0,45989	0,1022
	336	W	0	0	1	7,47939
	337	I	0,91229	0,06905	0,01867	0,1022
	338	Y	0,99766	0,00185	0,00049	0,1022
	339	M	0,99555	0,0043	0,00015	0,1022
	340	G	0,99859	0,00119	0,00022	0,1022
	341	F	0,99978	0,00018	0,00004	0,1022
	342	N	0,99886	0,00094	0,0002	0,1022
	343	S	0,9992	0,00065	0,00015	0,1022
	344	H	0,99911	0,00075	0,00013	0,1022
	345	L	0,98959	0,0088	0,00161	0,1022
	346	L	0,7734	0,20949	0,01711	0,1022
	347	P	0,96031	0,02772	0,01198	0,1022
	348	R	0,79886	0,16438	0,03676	0,1022
	349	P	0,99959	0,00036	0,00005	0,1022
C-TERMINAL	350	L	0,99188	0,00653	0,00159	0,1022
	351	R	0,14604	0,24205	0,61191	7,47939
	352	H	0,9765	0,02335	0,00015	0,1022
	353	L	0,95949	0,0314	0,0091	0,1022
	354	A	0,99969	0,00026	0,00006	0,1022
	355	C	0,99864	0,00111	0,00025	0,1022
	356	C	0,9814	0,00658	0,01202	0,1022
	357	G	0,0678	0,93056	0,00164	1
	358	G	0,06287	0,92115	0,01597	1
	359	P	0,97858	0,02007	0,00135	0,1022
	360	Q	0,17543	0,82433	0,00023	1
	361	P	0,91719	0,05378	0,02904	0,1022

362	R	0,03188	0,62497	0,34315	1
363	M	0,91967	0,08016	0,00017	0,1022
364	R	0,89243	0,10262	0,00495	0,1022
365	R	0,53812	0,44171	0,02017	0,1022
366	R	0,27933	0,55576	0,16491	1
367	L	0,99676	0,00318	0,00007	0,1022
368	S	0,89746	0,10236	0,00019	0,1022
369	D	0,01786	0,98213	0,00001	1
370	G	0,00515	0,98464	0,0102	1
371	S	0,94924	0,05055	0,00021	0,1022
372	L	0,96294	0,03698	0,00008	0,1022
373	S	0,25508	0,74445	0,00048	1
374	S	0,72424	0,273	0,00276	0,1022
375	R	0,89373	0,09673	0,00954	0,1022
376	H	0,28586	0,71409	0,00004	1
377	T	0,97235	0,02756	0,00009	0,1022
378	T	0,74504	0,25308	0,00189	0,1022
379	L	0,76308	0,23552	0,0014	0,1022
380	L	0,7664	0,23219	0,00141	0,1022
381	T	0,83788	0,16204	0,00007	0,1022
382	R	0,70161	0,29821	0,00018	0,1022
383	S	0,06799	0,93187	0,00014	1
384	S	0,7686	0,23125	0,00015	0,1022
385	C	0,99095	0,00874	0,0003	0,1022
386	P	0,63159	0,36693	0,00148	0,1022
387	A	0,0209	0,97866	0,00044	1
388	T	0,99616	0,00375	0,00009	0,1022
389	L	0,89884	0,10106	0,0001	0,1022
390	S	0,73004	0,26982	0,00014	0,1022
391	L	0,99954	0,0004	0,00006	0,1022
392	S	0,78642	0,21342	0,00016	0,1022
393	L	0,99954	0,00039	0,00007	0,1022
394	S	0,99137	0,00841	0,00021	0,1022
395	L	0,00002	0,00426	0,99572	7,47939
396	T	0,99292	0,00701	0,00007	0,1022
397	L	0,49489	0,29557	0,20954	0,1022
398	S	0,95363	0,03725	0,00912	0,1022
399	G	0,95628	0,02412	0,0196	0,1022
400	R	0,107	0,82308	0,06991	1
401	P	0,24565	0,71107	0,04328	1
402	R	0,25844	0,73171	0,00985	1
403	P	0,95259	0,01921	0,02821	0,1022
404	E	0,00188	0,99801	0,00011	1
405	E	0,01606	0,86411	0,11983	1
406	S	0,25412	0,73481	0,01107	1
407	P	0,00161	0,99699	0,0014	1

408	R	0,13712	0,8601	0,00278	1
409	D	0,06615	0,93297	0,00088	1
410	L	0,44646	0,54079	0,01276	1
411	E	0,97115	0,01012	0,01873	0,1022
412	L	0,13474	0,85792	0,00734	1
413	A	0,06055	0,87769	0,06177	1
414	D	0,92061	0,0465	0,03288	0,1022
415	G	0,47783	0,33474	0,18743	0,1022
416	E	0,90731	0,05706	0,03563	0,1022
417	G	0,97861	0,0116	0,00979	0,1022
418	T	0,97788	0,01082	0,0113	0,1022
419	A	0,00166	0,9971	0,00125	1
420	E	0,90827	0,07248	0,01925	0,1022
421	T	0,9877	0,00183	0,01048	0,1022
422	I	0,12014	0,57485	0,30501	1
423	I	0,98434	0,00714	0,00851	0,1022
424	F	0,94107	0,03254	0,02639	0,1022