



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112384624 A

(43) 申请公布日 2021.02.19

(21) 申请号 201980045273.9

(22) 申请日 2019.05.15

(30) 优先权数据

62/671,614 2018.05.15 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.01.05

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/032431 2019.05.15

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2019/222359 EN 2019.11.21

(71) 申请人 杜克大学

地址 美国北卡罗来纳州

(72) 发明人 R·瓦尔迪维亚 P·马尔库斯

L·戴维

(74) 专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713

代理人 王思琪 王建秀

(51) Int.Cl.

C12N 15/74 (2006.01)

C12N 15/90 (2006.01)

C12N 15/65 (2006.01)

C12N 15/10 (2006.01)

C12N 1/21 (2006.01)

C40B 50/06 (2006.01)

C40B 40/02 (2006.01)

C12Q 1/689 (2018.01)

C12Q 1/04 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

权利要求书2页 说明书13页

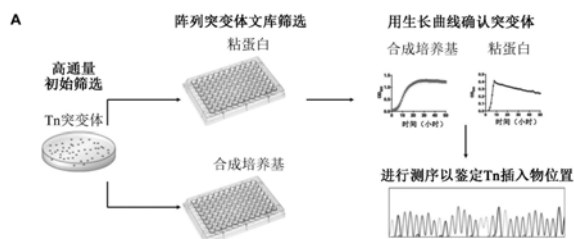
序列表34页 附图6页

(54) 发明名称

用于对阿克曼菌进行基因操纵的系统和方法

(57) 摘要

本公开提供了用于遗传改变和筛选包含嗜粘蛋白阿克曼菌的阿克曼菌属细菌的方法和系统。所述方法还提供了遗传改变的细菌、遗传改变的细菌的文库以及此类细菌用于治疗疾病的用途。



1. 一种遗传改变阿克曼菌属细菌 (*Akkermansia* bacteria) 的方法, 所述方法包括:
 - (a) 将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属中以产生多个改变的阿克曼菌属细菌; 以及
 - (b) 培养所述多个改变的阿克曼菌属以选择已经将所述载体的转座子结合到基因组中的细菌, 以产生多个遗传改变的阿克曼菌属细菌。
2. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述外源转座子载体是通过使所述阿克曼菌属细菌与包括所述转座子载体的大肠杆菌 (*E. coli*) 缀合引入的。
3. 根据权利要求1或2所述的方法, 其中步骤 (b) 包括在培养基中培养所述多个改变的阿克曼菌属, 所述培养基包括用于选择包括包含在转座子内的抗生素抗性基因的所述多个改变的阿克曼菌属的氯霉素。
4. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中步骤 (b) 包括在允许阿克曼菌属细菌生长但不允许包含大肠杆菌的其它细菌菌株生长的培养条件下培养所述改变的阿克曼菌属。
5. 根据权利要求3所述的方法, 其中所述细菌是在厌氧条件下培养的, 并且所述培养基包括用于选择在其基因组内结合有转座子的改变的阿克曼菌属的氯霉素。
6. 根据权利要求1到4中任一项所述的方法, 其中所述方法进一步包括:
 - (c) 在选择性状的条件下培养所述多个遗传改变的阿克曼菌属; 以及
 - (d) 通过对阿克曼菌属基因组内与转座子相邻的基因进行PCR或测序来鉴别与所述性状相关的基因。
7. 根据权利要求6所述的方法, 其中所述性状是所述阿克曼菌属对粘蛋白的利用率, 并且其中步骤 (c) 包括在有或没有粘蛋白的培养基中培养所述遗传改变的阿克曼菌属。
8. 根据权利要求7所述的方法, 其中所述方法进一步包括:
 - (d) 对在存在粘蛋白的情况下生长的所述改变的阿克曼菌属中的基因和在不存在粘蛋白的情况下生长的所述改变的阿克曼菌属中的基因进行遗传分析以确定调节粘蛋白利用率的基因。
9. 根据权利要求6所述的方法, 其中表型性状与肠的稳定定殖相关, 并且其中所述方法进一步包括:
 - (d) 将所述多个遗传改变的阿克曼菌属引入受试者中, 以及
 - (e) 通过对改变的细菌中的基因进行遗传分析来检测具有使所述受试者的肠定殖的生长优势的所述改变的阿克曼菌属。
10. 根据权利要求7到9中任一项所述的方法, 其中遗传分析是通过多个改变的阿克曼菌属变体的至少一部分的DNA序列进行的。
11. 一种通过根据权利要求1到10中任一项所述的方法产生的遗传改变的阿克曼菌属细菌, 其中遗传改变的阿克曼菌属细菌基因组含有转座子。
12. 一种通过将来自SEQ ID NO:1的载体的转座子结合到阿克曼菌属细菌中而产生的遗传改变的阿克曼菌属细菌。
13. 根据权利要求12所述的遗传改变的阿克曼菌属细菌, 其中所述细菌破坏表1中所列的基因中的任何一个基因。
14. 根据权利要求12所述的遗传改变的阿克曼菌属细菌, 其中所述细菌破坏表2中所列

的基因中的任何一个基因。

15. 根据权利要求12所述的遗传改变的阿克曼菌属细菌,其中所述细菌破坏表3中所列的基因中的任何一个基因。

16. 一种改变的阿克曼菌属细菌的文库,所述文库是通过以下产生的:将来自SEQ ID NO:1的载体的转座子随机引入阿克曼菌属群体中,以及通过在厌氧条件下在培养基中培养所述细菌来选择所述改变的阿克曼菌属细菌,所述培养基含有用于选择已经将所述转座子插入到其基因组中的阿克曼菌属的氯霉素。

17. 根据权利要求13所述的文库,其中所述文库通过根据权利要求1到5中任一项所述的方法产生。

18. 一种选择具有性状的改变的遗传调节剂的改变的阿克曼菌属细菌的方法,所述方法包括:

(a) 将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属群体中,以将转座子随机结合到阿克曼菌属基因组中;

(b) 培养所述阿克曼菌属群体以选择已经将所述转座子整合到其基因组中的阿克曼菌属以产生多个改变的阿克曼菌属变体;以及

(c) 通过在选择改变的遗传性状的条件培养所述阿克曼菌属来选择具有所述改变的遗传调节剂的阿克曼菌属。

19. 根据权利要求18所述的方法,其中步骤(a)包括使所述阿克曼菌属与含有SEQ ID NO:1的所述转座子载体的大肠杆菌缀合。

20. 根据权利要求18或19所述的方法,其中步骤(b)包括在厌氧条件下传代培养所述细菌以在存在氯霉素的情况下选择所述改变的阿克曼菌属变体。

21. 根据权利要求18到20中任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括(d)通过对与所述转座子相邻的基因组区域进行测序或PCR扩增来确定所述改变的遗传调节剂。

22. 一种鉴别阿克曼菌属的性状的新颖遗传调节剂的方法,所述方法包括:

(a) 将SEQ ID NO:1的外源转座子载体结合到阿克曼菌属群体中,以产生将转座子结合到其基因组中的改变的阿克曼菌属群体;

(b) 在培养基中培养所述阿克曼菌属,所述培养基包括用于选择已经结合了外源转座子的阿克曼菌属的氯霉素;

(c) 使所述改变的阿克曼菌属暴露于两种不同的条件;以及

(d) 通过以下进行分析:对由在所述两种不同的条件下生长的所述改变的阿克曼菌属中的转座子破坏的基因进行测序或PCR扩增,以鉴别与所述性状相关的基因。

23. 根据权利要求1到10或18到22中任一项所述的方法,其中所述阿克曼菌属为嗜粘蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)或阿克曼菌属的临床菌株。

24. 根据权利要求11到15中任一项所述的遗传改变的阿克曼菌属或根据权利要求16或17所述的文库,其中所述阿克曼菌属为嗜粘蛋白阿克曼菌或阿克曼菌属的临床菌株。

用于对阿克曼菌进行基因操纵的系统和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2018年5月15日提交的美国临时申请第62/671,614号的优先权,所述美国临时申请的内容通过全文引用并入。

[0003] 关于联邦政府资助研究的声明

[0004] 本发明是根据NIH授予的联邦授权号5R21DK110496-02在政府支持下进行的。联邦政府享有本发明中的某些权利。

背景技术

[0005] 本发明的领域涉及对具有改变的表型的肠道微生物进行遗传修饰和选择并且将这些微生物用于治疗疾病。

[0006] 嗜粘蛋白阿克曼菌 (*Akkermansia muciniphilia*) 是在人肠道粘膜表面上发现的细菌。此细菌使用粘蛋白作为其单一营养来源。所述细菌占成年人肠细菌的1-4%并且是一种栖居在大肠中的细菌。所述细菌是革兰氏阴性、专性、厌氧、非运动性、无芽孢形成的椭圆形真杆菌,所述真杆菌被认为对肠道菌群有益。然而,已发现阿克曼菌属 (*Akkermansia*) 难以进行分子操纵。阿克曼菌属在生理学上影响肠道微生物组、粘膜和全身免疫以及葡萄糖/脂质代谢的机制尚未十分了解。

[0007] 如此,需要用于产生遗传改变的阿克曼菌属菌株以研究其在肠道菌群中的作用的方法和系统。

发明内容

[0008] 本公开部分地基于发明人对用于使用转座子载体遗传改变阿克曼菌属细菌 (*Akkermansia bacteria*) 的方法的开发。还提供了遗传改变的阿克曼菌属细菌和改变的阿克曼菌属细菌的文库。在本文所描述和展示的全部内容中提供了本公开的其它方面。

[0009] 在一个方面,本公开提供了一种遗传改变阿克曼菌属细菌的方法,所述方法包括:(a) 将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属以产生多个改变的阿克曼菌属细菌;以及 (b) 培养所述多个改变的阿克曼菌属以选择已经将所述载体的转座子结合到基因组中的细菌,以产生多个遗传改变的阿克曼菌属细菌。

[0010] 在另一个方面,本公开提供了一种通过所描述的方法产生的遗传改变的阿克曼菌属细菌,其中遗传改变的阿克曼菌属细菌基因组含有所述转座子载体 (SEQ ID NO:1) 的转座子 (SEQ ID NO:47)。

[0011] 在另一个方面,本公开提供了一种通过将来自SEQ ID NO:1的载体的转座子结合到阿克曼菌属细菌中而产生的遗传改变的阿克曼菌属细菌。在一个实例中,转座子是结合到阿克曼菌属基因组中的SEQ ID NO:47。

[0012] 在另一个方面,本公开提供了一种改变的阿克曼菌属细菌的文库,所述文库是通过以下产生的:将来自SEQ ID NO:1的载体的转座子随机引入阿克曼菌属群体中,以及通过在厌氧条件下在培养基中培养所述细菌来选择所述改变的阿克曼菌属细菌,所述培养基含

有用于选择已经将所述转座子插入到其基因组中的阿克曼菌属的氯霉素。

[0013] 在又一个方面,本公开提供了一种选择具有性状的改变的遗传调节剂的改变的阿克曼菌属细菌的方法,所述方法包括:(a)将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属群体,以将转座子随机结合到阿克曼菌属基因组中;(b)培养所述群体阿克曼菌属以选择已经将所述转座子整合到其基因组中以产生多个改变的阿克曼菌属变体的阿克曼菌属;以及(c)通过在选择改变的遗传性状的条件下培养所述阿克曼菌属来选择具有所述改变的遗传调节剂的阿克曼菌属。

[0014] 在另一个方面,本公开提供了一种鉴别阿克曼菌属的性状的新颖遗传调节剂的方法,所述方法包括:(a)将SEQ ID NO:1的外源转座子载体结合到阿克曼菌属群体中,以产生将转座子结合到其基因组中的改变的阿克曼菌属群体;(b)在培养基中培养所述阿克曼菌属,所述培养基包括用于选择已经结合了外源转座子的阿克曼菌属的氯霉素;(c)使所述改变的阿克曼菌属暴露于两种不同的条件;以及(d)通过以下进行分析:对由在所述两种不同的条件下生长的所述改变的阿克曼菌属中的转座子破坏的基因进行测序或PCR扩增,以鉴别与所述性状相关的基因。

[0015] 本发明的前述方面和其它方面以及优点将从以下描述中显现。在说明书中,对附图进行了参考,所述附图形成其一部分,并且在附图中通过说明的方式示出了本发明的优选实施例。然而,此类实施例并不一定表示本发明的全部范围,并且因此对权利要求进行参考并且在本文中用于解释本发明的范围。

附图说明

[0016] 图1.阿克曼菌属兼容的转座子载体pSAM_Akk。

[0017] 图2.pSAM_Akk转座子插入阿克曼菌属基因组中。(A)在数轮传代培养转移接合子之后,进行定量PCR以检测质粒主链上bla基因。需要这些传代培养步骤来对大肠杆菌(E.coli)进行反选择,固化质粒并且进行转座。(B)对来自野生型阿克曼菌属和与双氧素标记的转座子特异性探针反应的转座子突变体的HindIII消化的基因组DNA进行Southern印迹。(C)进行PCR以检测阿克曼菌属特异性16S rDNA(Akk)、质粒主链(bla)和转座子(cat)内的抗药性标志物。

[0018] 图3.针对粘蛋白利用率所需要的基因进行阵列突变体筛选。(A)用于鉴别在粘蛋白上生长所需要的基因的方法。在缀合之后,Tn突变体在具有抗生素选择的板上生长,并且对单独的菌落进行排列并且在96孔板中生长。然后将突变体用于接种含有具有粘蛋白或单糖作为碳源的培养基的板。选择在合成培养基中而非粘蛋白中生长的Tn突变体用于进行另外的表型表征和PCR,以鉴别Tn插入位置。(B)野生型阿克曼菌属和所选突变体的生长曲线。突变体展现出粘蛋白特异性生长缺陷。

[0019] 图4.使用Tn/IN-seq在体内进行大规模基因筛选。(A)合并阿克曼菌属Tn突变体并且通过口服强饲法将所述突变体用于定殖无菌小鼠。强饲后七天,收集沿肠道的各个位置的内容物并且将其用于DNA分离。基于与转座子插入相邻的独特DNA序列,使用Illumina测序以鉴别输入池和输出池中的突变体的丰度。从池中耗尽的突变体具有破坏定殖所需要的基因的Tn插入。(B)7天后在输入强饲和盲肠中鉴别的基因图。基因丰度通过每百万分计数进行标准化,并且每个点表示具有Tn插入的基因。(C)7天后在输入强饲和盲肠中鉴别的基

因图。灰色点是Tn插入位点,并且彩色点表示在粘蛋白利用率所需要的基因中的Tn插入。

[0020] 图5.针对粘蛋白和阿克曼菌属的对小鼠的胃肠道染色的代表性图像。

[0021] 图6.对已利用野生型(wt)阿克曼菌属或突变体Amuc-0544阿克曼菌属定殖的小鼠的近端结肠和远端结肠染色的代表性图像。如底行所证实,需要基因Amuc-0544以进行远端结肠的定殖。

具体实施方式

[0022] 已经根据一个或多个优选实施例描述了本发明,并且应当理解,除了明确陈述的那些等同物、替代方案、变化和修改之外的许多等同物、替代方案、变化和修改是可能的并且在本发明的范围内。在描述本发明之前,应当理解,本发明不限于所描述的特定方法、方案和试剂,因为这些可能变化。还应理解的是,本文所使用的术语仅是为了描述特定实施例的目的,并非旨在限制本发明的范围,所述范围将仅由所附权利要求限制。

[0023] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语的含义与如本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同。尽管在本发明的实践或测试中可以使用类似于或等同于本文所述的方法和材料的任何方法和材料,但现在描述优选的方法和材料。为了描述和公开在出版物中报道的可能与本发明结合使用的化学物质、细胞系、载体、动物、仪器、统计分析和方法,本文所提及的所有出版物均通过引用并入本文中。本文中的任何内容均不应被解释为承认本发明无权由于先前发明而早于此类公开内容。

[0024] 本文所使用的冠词“一个和一种(a/an)”是指所述冠词的语法宾语中的一个或多个(即,至少一个)语法宾语。举例来说,“要素”意指至少一个要素并且可以包含多于一个要素。

[0025] 通过假设给定值可以“略高于”或“略低于”端点而不会影响期望结果,使用“约”以为数值范围端点提供灵活性。如本文所使用的术语“约”是指所列数值的+/-10%的范围。

[0026] 本文中对术语“包含(including)”、“包括(comprising)”或“具有(having)”和其变化的使用意指涵盖其后列出的要素和其等同物以及另外的要素。叙述为“包含”、“包括”或“具有”某些要素的实施例还被考虑是“基本上由那些特定要素组成”和“由那些特定要素组成”。

[0027] 除非本文中另外指明,否则对本文中值范围的叙述仅旨在用作单独地提及落入所述范围的每个单独值的速记方法,并且每个单独值并入本说明书中,如同在本文中单独地叙述一样。例如,如果将浓度范围陈述为1%到50%,则意图是在本说明书中明确枚举如2%到40%、10%到30%或1%到3%等值。这些仅仅是具体意指的实例,并且所枚举的最低值与最高值之间以及包含最低值和最高值的数值的所有可能组合都被认为在本公开中明确陈述。

[0028] 如本文所使用的,“治疗”、“疗法”和/或“疗法方案”是指响应于由患者表现出的或患者可能易患的疾病、病症或生理病状而进行的临床干预。治疗的目的包含减轻或预防症状,减慢或停止疾病、病症或病状的发展或恶化和/或使疾病、病症或病状缓解。

[0029] 术语“有效量”或“治疗有效量”是指足以实现有益或期望的生物学和/或临床结果的量。

[0030] 如本文所使用的,术语“受试者”和“患者”在本文可互换使用并且是指人和非人动

物两者。在一个优选的实施例中,受试者或患者是人。本公开的术语“非人动物”包含所有脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,如非人灵长类、小鼠、大鼠、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。在一些实施例中,受试者是小鼠或疾病的小鼠模型。

[0031] 方法

[0032] 本公开部分地提供了用于肠道微生物嗜粘蛋白阿克曼菌和相关物种(包含临床菌株)的突变和表征的材料、系统和方法以及改变的阿克曼菌属的所述材料、系统和方法的用途。

[0033] 本公开提供了用于基因操纵新兴的益生菌嗜粘蛋白阿克曼菌的工具和方法。所述系统和方法允许快速地鉴别与表型性状有关的因子,例如,介导动物定殖的因子,包含介导粘蛋白的分解和与微生物群的其它成员成功竞争的新酶。所述系统允许产生更适合作为慢性炎症的免疫调节剂并且具有增强的特性作为抵抗饮食诱导的肥胖症的保护剂和癌症免疫疗法的加强剂的改变的菌株。

[0034] 发明人已经开发了用于遗传修饰结合到转座子诱变(将来自载体的转座子插入阿克曼菌属基因组)的嗜粘蛋白阿克曼菌、表型分析和PCR或基于测序的突变映射以鉴别在肠中的人微生物组中发现的阿克曼菌属中的新颖遗传调节剂的方法。

[0035] 嗜粘蛋白阿克曼菌是在肠道微生物组中发现的革兰氏阴性、严格厌氧、非运动性、无芽孢形成的椭圆形细菌。在本公开之前,不知道嗜粘蛋白阿克曼菌适合于分子基因操纵。已知嗜粘蛋白阿克曼菌处理粘蛋白,即对胃肠道的内腔保护很重要的糖基化蛋白。

[0036] 胃肠道中的碳水化合物的可用性在塑造微生物群的结构功能以及确定哪些微生物可以生长并且在肠道中定殖方面发挥作用。利用微生物促进健康取决于在肠道内定殖有用的细菌以维持健康菌群的能力。关于肠道细菌对粘蛋白降解的结构要求以及与能够降解和利用粘蛋白和粘蛋白聚糖的菌株相关的酶的有限功能表征,仍然知之甚少。粘蛋白是大的、高度糖基化蛋白。本公开提供了制备改变的阿克曼菌属变体、改变的阿克曼菌属群体的方法,以及改变的阿克曼菌属用于定殖结肠和促进受试者的健康的用途。

[0037] 在一个方面,本公开提供了一种遗传改变阿克曼菌属细菌的方法,所述方法包括:(a) 将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属细菌以产生改变的阿克曼菌属;以及(b) 培养改变的阿克曼菌属以选择已经将转座子结合到基因组中的阿克曼菌属。在另一个方面,本公开提供了一种遗传改变阿克曼菌属细菌的方法,所述方法包括:(a) 将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属中以产生包括转座子的多个改变的阿克曼菌属细菌;以及(b) 培养所述多个改变的阿克曼菌属以选择已经将转座子结合到基因组中的细菌,以产生多个遗传改变的阿克曼菌属细菌。

[0038] 将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属中以产生多个改变的阿克曼菌属细菌的方法在本领域是已知的。这些方法通常被称为转座子诱变或转座诱变,并且允许基因转移到宿主生物的染色体上,从而中断或修饰染色体上现存基因的功能并且引起突变。这允许在基因组内诱导单一命中突变的能力,以及通过能够鉴别转座子的相邻序列来鉴别已诱变的基因的能力。SEQ ID NO:1的转座子载体已被专门设计用于如实例1所描述的阿克曼菌属。SEQ ID NO:1的载体含有经修饰mariner转座子himar1C9,所述转座子具有氯霉素抗性盒(cat)和催化转座所需要的转座酶。载体进一步包括依赖于lambda pir的复制起点并且无法在缺乏pir基因的菌株如阿克曼菌属中复制。

[0039] 转座子载体 (SEQ ID NO:1) 包括转座子 (SEQ ID NO:1的核酸1078-1145 (例如SEQ ID NO:47)) 和转座酶。转座酶是提取转座子并且将其插入阿克曼菌属基因组中所必需的。一旦转座发生,就将转座子 (SEQ ID NO:47 (SEQ ID NO:1的核酸1078-1145)) 插入改变的阿克曼菌属菌株的基因组中。因此,改变的阿克曼菌属菌株/变体包括SEQ ID NO:1的转座子。换句话说,改变的阿克曼菌属菌株/变体在所述阿克曼菌属的基因组内包括SEQ ID NO:47,但不含有转座子载体主链的其余部分。

[0040] 转座子载体在转座子内含有针对氯霉素 (cat) 的抗生素抗性基因,所述抗生素抗性基因是在阿克曼菌属中使用所必需的,因为先前的使用红霉素作为抗生素选择的载体在阿克曼菌属中不起作用并且导致自发抗性。

[0041] 将转座子载体引入阿克曼菌属中的一种方法是通过缀合。缀合方法是本领域已知的,并且例如但不限于如实例2中所描述的方法。细菌缀合是遗传物质 (例如,SEQ ID NO:1的外源转座子载体) 在细菌细胞之间通过直接的细胞到细胞的转移。在一个优选的实施例中,将转座子载体从大肠杆菌菌株缀合到阿克曼菌属。缀合的方法包含在37°C下在有氧条件下将携带转座子载体 (例如,SEQ ID NO:1) 的大肠杆菌菌株与阿克曼菌属共培养持续约7-14小时。

[0042] 缀合后,为了对大肠杆菌进行反选择并且允许转座发生,对转移缀合物进行传代培养。合适的传代培养的方法是本领域已知的。例如,如实例2所描述的,在厌氧条件下多次 (例如3次) 对转移缀合物进行传代培养。这允许从培养物中的其它细菌菌株中选择已将转座子 (例如对应于SEQ ID NO:1的核酸1078-1145的SEQ ID NO:47) 结合到其基因组中的改变的阿克曼菌属 (变体菌株)。这种传代培养条件是厌氧条件并且包含在包括氯霉素的培养基中的传代培养步骤,所述氯霉素是包含在转座子序列中的抗生素抗性基因。

[0043] 一旦进行传代培养,就产生了在其基因组中包括转座子 (包含抗生素抗性基因) 的改变的阿克曼菌属群体。这种改变的阿克曼菌属群体可以生长并且用作用于筛选和治疗目的的改变的阿克曼菌属的文库。改变的阿克曼菌属 (其突变体) 的文库可以用于筛选表型性状。例如,在一个实施例中,文库可以在与表型性状相关的条件下生长并且筛选以鉴别与表型性状相关的基因。

[0044] 改变的阿克曼菌属染色文库还可以用于通过对与插入到基因组中的转座子相邻的基因组序列进行DNA测序或PCR分析来表征每种改变的阿克曼菌属菌株。这允许确定哪个基因已通过插入转座子而被改变。

[0045] 在一个实施例中,所述方法进一步包括:在选择性状的条件下培养所述多个遗传改变的阿克曼菌属;以及通过对阿克曼菌属基因组内与转座子相邻的基因进行PCR或测序来鉴别与性状相关的基因。

[0046] 用于鉴别由转座子破坏的基因的DNA测序方法是本领域已知的。例如,在一个实施例中,所使用的DNA测序方法可以是如以下中描述的INSeq/TnSeq:Goodman等人 (《自然实验手册 (Nat. Protoc.)》:6 (12):1969-1980 (2012), doi:10.1038/nprot2011.417), 所述文献的内容通过全文引用并入。简而言之,插入测序 (INSeq) 是用于使用在其末端处含有MmeI位点的经修饰mariner转座子确定混合群体中的转座子突变体的插入位点和丰度,从而允许从插入的转座子在染色体位点16-17bp处进行切割的方法。参见Goodman等人摘要。通过线性PCR对邻近转座子的基因组区域进行扩增,并且使用如Goodman中所描述的高通量仪器对

邻近转座子的基因组区域进行测序。

[0047] 本公开考虑遗传改变的阿克曼菌属的文库，特别是遗传改变的嗜粘蛋白阿克曼菌的文库。进一步地，由阿克曼菌属的临床菌株（例如，从患者，例如但不限于肥胖患者、患有慢性炎症的患者等中分离的菌株）制备的遗传改变的阿克曼菌属的文库。文库可以用于筛选和培养在表型性状中起作用的改变的阿克曼菌属。

[0048] 在另一个实施例中，本公开提供了一种改变的阿克曼菌属细菌的文库，所述文库是通过以下产生的：将来自SEQ ID NO:1的载体的转座子随机引入阿克曼菌属群体中，以及通过在厌氧条件下在培养基中培养所述细菌来选择所述改变的阿克曼菌属细菌，所述培养基含有用于选择已经将所述转座子插入到其基因组中的阿克曼菌属的氯霉素。术语“文库”关于多个改变的阿克曼菌属使用并且可与多个改变的阿克曼菌属细菌互换使用。

[0049] 如本文所使用的，术语“改变的阿克曼菌属”、“改变的阿克曼菌属菌株”、“遗传改变的阿克曼菌属”，“阿克曼菌属的变体”、“Tn突变体阿克曼菌属”、“Tn突变体”和“突变体阿克曼菌属”可互换使用以指将SEQ ID NO:1的转座子载体的转座子结合到其基因组中的经过遗传修饰的阿克曼菌属。如本领域所指出的，Tn突变体是指通过插入转座子(Tn)制备的突变体菌株。阿克曼菌属可以是属于该属的任何已知的阿克曼菌属，包含但不限于例如，嗜粘蛋白阿克曼菌或与患者分离的临床物种。

[0050] 例如，改变的阿克曼菌属菌株的文库可以用于筛选利用粘蛋白所需要的基因的方法中。在一些实施例中，在有或没有粘蛋白的培养基中培养遗传改变的阿克曼菌属的文库。可以在没有粘蛋白的情况下生长的文库与在含有粘蛋白的培养基中生长的文库进行基因比较。可以通过如本文详述的测序或PCR分析来确定对在存在粘蛋白的情况下生长的改变的阿克曼菌属中的基因和在不存在粘蛋白的情况下生长的改变的阿克曼菌属中的基因，以及来自所述两个群体的进行比较以鉴别调节粘蛋白利用率的基因进行遗传分析的方法。这在本文的实例3中得到证实。

[0051] 在一些实施例中，可以鉴别在存在粘蛋白的情况下具有有利的生长特性的改变的阿克曼菌属菌株。这些具有有利的生长特性的改变的阿克曼菌属可以用于通过向受试者施用改变的阿克曼菌属而定殖受试者的结肠。

[0052] 向受试者施用改变的阿克曼菌属菌株的合适方法是本领域已知的，并且包含口服、直肠或以维持细菌活力的其它途径施用改变的阿克曼菌属。在一些实施例中，改变的染色可以例如但不限于以允许将菌株递送到肠道的片剂、胶囊、液体等形式口服施用。合适地，可以将改变的菌株调配成允许菌株在被递送到肠道的同时维持活力的组合物。

[0053] 在另一个实施例中，可以针对与肠的稳定定殖相关的表型性状，对改变的阿克曼菌属的文库进行筛选。在一些实施例中，所述方法包括：将所述多个遗传改变的阿克曼菌属引入受试者中，以及(e)通过对在受试者的结肠内生长的改变的细菌中的基因进行遗传分析来检测具有使受试者的肠定殖的生长优势的改变的阿克曼菌属。在一些实施例中，在来自受试者的结肠的样品中获得使受试者的结肠定殖的细菌，从而在适合阿克曼菌属生长的条件（例如在存在用于选择具有转座子的阿克曼菌属的氯霉素的情况下的厌氧条件）下培养样品，并且通过对生长的改变的阿克曼菌属菌株进行测序或PCR分析来鉴别与生长优势相关的基因。合适地，用于确定相关基因的DNA测序或PCR方法对转座子具有特异性（例如，使用对外源转座子具有特异性的引物）并且因此允许鉴别如与可以在肠道内生长的任何野

生型细菌相反的具有转座子的遗传改变的阿克曼菌属菌株。在一些实施例中,受试者是小鼠。在一些实施例中,受试者是疾病的小鼠模型(例如,肥胖症小鼠模型等)。

[0054] 本文所描述的方法可以用于筛选其它表型性状的方法。例如,在各种饮食/疾病条件下筛选具有增强定殖的变体的Tn/IN-seq。这可以通过向受试者喂食特定饮食,以及筛选改变的细菌在特定饮食条件下或免疫状态改变下定殖结肠的能力来完成。这可以鉴别具有具体地分解和利用饮食成分的基因的改变的细菌。

[0055] 在另一个实施例中,本文所描述的方法可以用于筛选涉及表型的基因,所述基因可能影响定殖和与宿主的相互作用,例如生物膜形成、聚集、胶囊产生、IgA结合以及对抗菌肽或胆汁盐的抗性。在一些实例中,表型性状可以是例如但不限于氨基酸生物合成、碳水化合物代谢、营养吸收、氧化还原耐受性、粘附、侵袭、生长、繁殖等。性状可以包含对所述细菌的整体生长和存活很重要的基因决定的特性,如定殖宿主肠道的能力。例如,如实例中所证明的,阿克曼菌属生长的一些遗传调节剂包含利用粘蛋白所需要的基因,例如,表1中发现的基因。在表3中发现了对于阿克曼菌属在包含受试者的远端结肠的结肠中生长和定殖所必需的其它基因。本公开不限于这些基因,因为这些基因是可以通过本文所描述的方法来鉴别的实例。

[0056] 在另外的实施例中,可以针对涉及活化宿主信号传导途径的基因对突变体进行筛选,所述宿主信号传导途径例如与肠健康和肥胖症的预防相关的TLR2信号传导途径。例如,在一个实施例中,所述方法涉及筛选通过免疫细胞具有不同水平的TLR2介导的识别的改变的阿克曼菌属菌株,或者在另一个实施例中,所述方法涉及向喂食相同饮食(例如,正常或高脂)的正常受试者和肥胖受试者(例如,正常和肥胖小鼠模型)施用改变的阿克曼菌属以及与非肥胖受试者相比,筛选与肥胖受试者内的细菌相关的基因。

[0057] 在另一个方面,本公开提供了一种选择具有性状的改变的遗传调节剂的改变的阿克曼菌属细菌的方法,所述方法包括:(a)将SEQ ID NO:1的外源转座子载体引入阿克曼菌属群体,以将转座子随机结合到阿克曼菌属基因组中;(b)培养所述群体阿克曼菌属以选择已经将所述转座子整合到其基因组中以产生多个改变的阿克曼菌属变体的阿克曼菌属;以及(c)通过在选择改变的遗传性状的条件下培养所述阿克曼菌属来选择具有所述改变的遗传调节剂的阿克曼菌属。在一些方面,步骤(a)包括使所述阿克曼菌属与含有SEQ ID NO:1的所述转座子载体的大肠杆菌缀合。在另外的方面,步骤(b)的方法包括在厌氧条件下传代培养所述细菌以在存在氯霉素的情况下选择所述改变的阿克曼菌属变体。确定改变的遗传调节剂的方法可以通过本领域已知的方法来完成,所述方法包含但不限于对邻近转座子要素的基因组进行测序(例如但不限于描述于Goodman等人.2011中的INSeq/TnSeq)或PCR分析。

[0058] 在另一个实施例中,本公开提供了一种鉴别阿克曼菌属性状的新颖遗传调节剂的方法,所述方法包括:(a)将SEQ ID NO:1的外源转座子载体结合到阿克曼菌属群体中,以产生将转座子结合到其基因组中的改变的阿克曼菌属群体;(b)在培养基中培养所述阿克曼菌属,所述培养基包括用于选择已经结合了外源转座子的阿克曼菌属的氯霉素;(c)使所述改变的阿克曼菌属暴露于两种不同的条件;以及(d)通过以下进行分析:对由在所述两种不同的条件下生长的所述改变的阿克曼菌属中的转座子破坏的基因进行测序或PCR扩增,以鉴别与所述性状相关的基因。

[0059] 本公开的另一个方面提供了一种系统,所述系统包括使用转座子载体的用于基因操纵阿克曼菌属细菌的发现平台,所述阿克曼菌属包含用于治疗受试者的慢性炎症的益生菌嗜粘蛋白阿克曼菌。

[0060] 在一些方面,基因操纵益生菌嗜粘蛋白阿克曼菌以治疗受试者的饮食诱导的肥胖症。

[0061] 在另一个方面,遗传改变的阿克曼菌属可以用于加强癌症免疫疗法中的免疫检查点抑制剂。这可以通过以下完成:在经历检查点抑制剂疗法的受试者中施用有效量的改变的阿克曼菌属(例如,改变的嗜粘蛋白阿克曼菌)以增强检查点抑制剂的抗癌特性(参见例如,Routy等人,《科学(Science)》359,91-97(2018))。

[0062] 考虑了增强检查点抑制剂疗法的方法。所述方法包括在经历检查点抑制剂疗法的受试者中施用有效量的改变的阿克曼菌属(例如,改变的嗜粘蛋白阿克曼菌)以增强检查点抑制剂的抗癌特性。例如,在一个实施例中,改变的阿克曼菌属(例如,改变的嗜粘蛋白阿克曼菌)可以用于提高基于PD-1的免疫疗法(例如,PD-1抗体(即,派姆单抗(pembrolizumab)、纳武单抗(nivolumab)、西米普利单抗(cemiplimab)等,这些可商购获得),例如,派姆单抗和抗PD-1抗体,其可从默克公司(Merck and Co)获得并且描述于美国专利第8952136号、第83545509号、第8900587号中和编号EP2170959中;纳武单抗,即抗PD-1抗体,其可从百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb Co)获得并且描述于美国专利第7595048号、第8728474号、第9073994号、第9067999号、第8008449号和第8779105号中)的功效。

[0063] 在一个实施例中,考虑了治疗饮食诱导的肥胖症的方法。所述方法包括向受试者施用有效量的改变的阿克曼菌属菌株以治疗饮食诱导的肥胖症。在一个实施例中,改变的阿克曼菌属菌株具有选自表3的改变的基因。

[0064] 在另一个方面,本公开提供了治疗炎性病症的方法,所述方法包括施用有效量的改变的阿克曼菌属菌株以治疗炎性病症。

[0065] 本公开的其它方面提供了使用本文所描述的用于基因操纵新兴的益生菌嗜粘蛋白阿克曼菌的以产生更适合作为慢性炎症的免疫调节剂并且具有作为抵抗饮食诱导的肥胖症的保护剂的增强特性的菌株的系统和方法。

[0066] 本公开还考虑了含有来自SEQ ID NO:1的转座子的遗传改变的阿克曼菌属细菌。

[0067] 在另一个方面,本公开考虑了破坏表1中所列的基因中的任何一个基因的遗传改变的阿克曼菌属细菌。这些遗传改变的阿克曼菌属细菌具有在利用粘蛋白的能力方面改变的基因。

[0068] 在另一个实施例中,本公开考虑了具有破坏表2中所列的基因中的任何一个基因的遗传改变的阿克曼菌属细菌。这些遗传改变的阿克曼菌属细菌具有利用粘蛋白所需要的基因。在另一个实施例中,本公开考虑了具有破坏表3中所列的基因中的任何一个基因的遗传改变的阿克曼菌属细菌。这些遗传改变的阿克曼菌属细菌具有在定殖受试者的结肠方面提供生长优势的基因。考虑了使用将表中所列的基因中的一个或多个基因破坏的经考虑的遗传改变的阿克曼菌属细菌中的任何经考虑的遗传改变的阿克曼菌属细菌的方法以用于施用到受试者。

[0069] 在一些实施例中,提供了用于执行本文所描述的方法的试剂盒。所提供的试剂盒可以含有必要的组件,利用所述组件执行上述方法中的一种或多种方法。

[0070] 在一个实施例中,试剂盒包括SEQ ID NO:1的载体和用于在细菌内转座的说明书。在一些实施例中,试剂盒包括关于如何分离和改变阿克曼菌属菌株(包括但不限于嗜粘蛋白阿克曼菌或相关物种,包含临床菌株)的说明书。

[0071] 在另一个实施例中,试剂盒包括包含SEQ ID NO:1的转座子的改变的嗜粘蛋白阿克曼菌菌株。

[0072] 已经根据一个或多个优选实施例描述了本发明,并且应当理解,除了明确陈述的那些等同物、替代方案、变化和修改之外的许多等同物、替代方案、变化和修改是可能的并且在本发明的范围内。

[0073] 对于本领域的技术人员显而易见的是,在不背离本发明构思的前提下,除了那些已经描述的修改之外,许多另外的修改也是可能的。在解释本公开时,应以与上下文一致的尽可能广泛的方式解释所有术语。术语“包括”的变体应被解释为以非排他性方式指代要素、组件或步骤,因此所引用的要素、组件或步骤可以与未明确引用的其它要素、组件或步骤组合。被称为“包括”某些要素的实施例还被考虑是“基本上由那些要素组成”和“由那些要素组成”。术语“基本上由...组成”和“由...组成”应按照MPEP和相关的联邦巡回法院(Federal Circuit)解释进行解释。过渡短语“基本上由...组成”将权利要求的范围限制为指定的材料或步骤“以及不会实质上影响所要求保护的发明的一个或多个基础和新颖特性的那些材料或步骤”。“由...组成”是不包含权利要求中未指定的任何要素、步骤或成分的封闭式术语。例如,关于序列“由...组成”是指在SEQ ID NO中列出的序列并且确实是指可能含有SEQ ID作为其一部分的较大序列。

[0074] 本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考通过全文引用并入。在发生冲突的情况下,以包括定义的本说明书为准。另外,所述材料、方法以及实例仅是说明性的并且不旨在是限制性的。

[0075] 本文所提供的系统和方法具有许多来自与人、牲畜和工业环境相关的微生物群落商业上重要的生物。

[0076] 在考虑以下非限制性实例时,将更充分地理解本发明。

[0077] 实例

[0078] 实例1:用于阿克曼菌属中的经修饰Tn诱变载体:pSAM_Akk

[0079] 为了能够对具有改变的表型的基因和改变的细菌进行基因筛选,需要用于使细菌突变的工具。产生先前描述的载体的修改版以在阿克曼菌属中使用。原始的载体pSAM_Bt¹被设计用于多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)。载体对具有红霉素抗性基因的经修饰mariner转座子himar1C9和催化转座所需要的转座酶两者进行编码。质粒使用依赖于lambda pir的复制起点并且无法在缺乏pir基因的菌株如阿克曼菌属中复制。

[0080] 为了使pSAM_Bt在阿克曼菌属中兼容使用,将转座子上的原始红霉素抗性标志物(ermG)替换为氯霉素抗性盒(cat)。在阿克曼菌属中初始尝试使用红霉素作为选择标志物未取得成功,并且随着红霉素的生长反复导致自发抗性。然后对转座酶进行密码子优化以在阿克曼菌属中表达。通过连结一系列管家基因以使22 628bp序列用作密码子分析的输入,以生成阿克曼菌属密码子表。himar1C9序列中的稀有密码子被替换为在阿克曼菌属中优先使用的密码子。所得质粒命名为pSAM_Akk(图1,SEQ ID NO:1)。发现载体的这些改变对于阿克曼菌属的诱变是必不可少的,并且仅抗性标志物或转座酶的改变不足以发生转座。

类似地,尚未成功使用阿克曼菌属启动子来驱动himar1C9的表达。如此,已特别地制备pSAM-Akk载体以允许嗜粘蛋白阿克曼菌的诱变。

[0081] 实例2:用于诱变和转座子(Tn)文库构建的方法

[0082] 通过与大肠杆菌供体菌株缀合来将转座子载体(SEQ ID NO:1)引入阿克曼菌属中。阿克曼菌属发酵剂培养物以1:5的比例传代培养在30ml的合成培养基²中并且生长到OD₆₀₀=0.6-1.0。然后在4°C下以10 000xg在1.5ml管中离心5分钟来收获细胞。同时,使大肠杆菌S17 pSAM_Akk培养物在LB+100ug/ml氨苄青霉素、35ug/ml氯霉素中在37°C下以200rpm有氧培养到光密度(OD) OD₆₀₀=0.4-0.7。为了避免剪切缀合菌毛,将大肠杆菌以2000xg离心3分钟,并且用无菌PBS洗涤一次。在合成培养基中将大肠杆菌和阿克曼菌属沉淀物组合成0.5ml的总体积,并且将悬浮液用于在预先还原的合成培养基板上制备100μl水坑。根据阿克曼菌属菌株,将板在37°C下有氧温育7-14小时。有氧温育对于成功的缀合至关重要。

[0083] 缀合后,将板转移到厌氧室,并且将细胞刮入5ml的PBS和50%甘油的1:1混合物(甘油是任选的,但需要在-80°C下储存培养物)中。为了对大肠杆菌进行反选择并且允许转座发生,将转移接合子传代培养三次。用200μl细胞悬浮液的等分试样接种具有12μg/ml卡那霉素和10μg/ml庆大霉素的3ml合成培养基并且在37°C下厌氧温育48小时。然后如上文所描述的以24小时的间隔将培养物再传代培养两次。这些传代培养步骤是固化质粒并且获得转座子突变体所必需的(图2A)。在第三轮传代培养之后,将100-200μl培养物铺在合成培养基琼脂板上,所述合成培养基琼脂板补充有10μg/ml庆大霉素、12μg/ml卡那霉素和7μg/ml氯霉素并且在37°C下厌氧温育6天。需要这种培养基来抑制残留大肠杆菌的生长。一旦转移接合子已经生长,用移液管尖端挑出单个菌落并且将单个菌落排列到96孔板中,所述板含每孔200μl合成培养基,所述合成培养基具有10μg/ml庆大霉素、12μg/ml卡那霉素和7μg/ml氯霉素并且在37°C下厌氧温育3天。

[0084] 为了确认转座子已插入基因组中,使用β-内酰胺酶基因的PCR测试质粒主链(b1a)是否不存在以及转座子(cat)是否存在。最后,对突变体的子集进行Southern印迹,以确认Tn插入已作为单个插入出现并且出现在基因组的多个位置处(图2B和2C)。

[0085] 实例3:转座子突变体筛选—针对粘蛋白利用率所需要的基因对转座子突变体进行

[0086] 为了筛选粘蛋白利用率所需要的基因,将阵列Tn突变体用于接种含有粘蛋白培养基³或合成培养基的重复96孔板。将板在37°C下厌氧温育3天。生长后,使用酶标仪测量OD₆₀₀。选择在合成培养基中生长但不在粘蛋白中生长的突变体进行另外的表征。为了确认初始筛选,通过在酶标仪中进行生长曲线测定对所关注的突变体的粘蛋白生长缺陷进行测试,每60分钟进行测量,持续72小时(图3)。任意PCR用于定位转座子插入位点并且鉴别在粘蛋白上生长所需要的基因。筛选导致鉴别在粘蛋白上生长而不是在单糖上生长特别需要的基因(表1)。

[0087] 表1. 鉴别为在粘蛋白上生长所需要的基因

基因	登录号基因/蛋白质	基因 SEQ ID No:	预测的蛋白质功能
Amuc_0029 (AMUC_RS00160)	ACD03876/NC_010655.1 (37306..38232, 互补体)	SEQ ID NO: 2	UDP-葡萄糖 4-表异构酶
Amuc_0354	ACD04193/NC_010655.1 (417915..419204, 互补体)	SEQ ID NO: 3	外膜外排孔蛋白
Amuc_0394	ACD04233/NC_010655.1 (476127..476885, 互补体)	SEQ ID NO: 4	N-甲基结构域蛋白
Amuc_0543	ACD04381/NC_010655.1 (641820..642842, 互补体)	SEQ ID NO: 5	TPR
Amuc_0544	ACD04382/NC_010655.1 (642890..646123, 互补体)	SEQ ID NO: 6	TPR
Amuc_1101	ACD04927/CP001071.1 (1315394..1317178, 互补体)	SEQ ID NO: 7	iv 型菌毛蛋白/FtsA
Amuc_1102	ACD04928/NC_010655.1 (1317279..1317995, 互补体)	SEQ ID NO: 8	假设蛋白
Amuc_1229	ACD05054 / CP001071.1 (1477983..1478759, 互补体)	SEQ ID NO: 9	IncA 类
Amuc_1246	ACD05071/NC_010655.1 (1495432..1496679, 互补体)	SEQ ID NO: 10	PA14 结构域蛋白
Amuc_1443	ACD05265/NC_010655.1 (1732600..1733982)	SEQ ID NO: 11	TPR
Amuc_1486	ACD05308/NC_010655.1 (1776309..1776770, 互补体)	SEQ ID NO: 12	假设蛋白
Amuc_1523	ACD05344/NC_010655.1 (1823279..1824025)	SEQ ID NO: 13	菌毛
Amuc_1524	ACD05345 / CP001071.1 (1824058..1824858, 互补体)	SEQ ID NO: 14	N-甲基菌毛

[0088] 实例4:针对肠定殖所需要的基因对转座子突变体进行筛选

[0090] 用于筛选Tn突变体的第二种方法是创建大型汇集的文库,以用于转座子插入测序(Tn/IN-seq)¹。此方法通过使大量突变体通过各种条件,并且然后使用下一代测序来测试输入池和输出池中的每种突变体的丰度来鉴别条件必需的基因。在特定条件下存活所需要的基因将从输入池中耗尽。使用Tn/IN-seq鉴别定殖小鼠肠道所需要的基因。

[0091] 为了创建汇集的文库,将等体积的阵列Tn突变体汇集到单个悬浮液中。将细胞悬浮液以1:10的比例稀释到合成培养基中,并且在37°C下厌氧温育36小时(此生长步骤是任选的)。然后将培养物用无菌PBS洗涤一次并浓缩10倍,以获得大约为10¹⁰CFU/ml的最终浓度。细胞悬浮液用于以约10⁸CFU强饲无菌C57BL/6小鼠。定殖一周之后,对小鼠实施安乐死并且收集盲肠内容物以进行DNA分离。然后,遵循Goodman等人所描述的方案,利用经修饰引物集以允许在Illumina的HiSeq 4000平台上进行测序,从而使用DNA来制备测序文库。

[0092] 对Tn/IN-seq数据的分析鉴别肠道的稳定定殖所需要的基因(图4)。定殖所需要的基因包含II型分泌系统的假定组分、IV型菌毛蛋白和糖基水解酶等(表2)。相反,某些基因的失活导致丰度增加,这表明文库可能潜在地筛选出超定殖变体(表3)。另外,无法在粘蛋白上生长的突变体从群体中急剧耗尽,这证实了粘蛋白上的生长是在体内发生的并且对于阿克曼菌属定殖很重要。

[0093] 表2.在强饲后七天盲肠中丰度下降的情况下的前25个基因的代表性数据。

[0094]

基因	登录号蛋白质/基因	SEQ ID No (基因)	注释	Log2 倍数变化	粘蛋白生长
'Amuc_0394'	ACD04233/ NC_010655.1 (476127..476885, 互补体)	SEQ ID NO: 15	'II 型分泌系统蛋白'	-14.29819088	否
'Amuc_0544'	ACD04382/ NC_010655.1 (642890..646123, 互补体)	SEQ ID NO: 16	'四肽重复蛋白'	-12.85004557	否
'Amuc_1585'	ACD05405/ NC_010655.1 (1905728..1907386, 互补体)	SEQ ID NO: 17	'II/IV 型分泌系统蛋白'	-12.36982429	
'Amuc_1584'	ACD05404/ NC_010655.1 (1904390..1905658, 互补体)	SEQ ID NO: 18	'II 型分泌系统 F 家族蛋白'	-11.76964088	
'Amuc_1102'	ACD04928/ NC_010655.1 (1317279..1317995, 互补体)	SEQ ID NO: 19	'假设蛋白'	-11.48189687	
'Amuc_1781'	ACD05599/ NC_010655.1 (2169362..2170345, 互补体)	SEQ ID NO: 20	'MoxR 家族 ATPase'	-10.89820545	
'Amuc_1486'	ACD05308/ NC_010655.1 (1776309..1776770, 互补体)	SEQ ID NO: 21	'假设蛋白'	-10.7100209	否
'Amuc_1443'	ACD05265/ NC_010655.1 (1732600..1733982)	SEQ ID NO: 22	'假设蛋白'	-10.59173905	否
'Amuc_0775'	ACD04610/ NC_010655.1 (913422..913889, 互补体)	SEQ ID NO: 23	'酰基辅酶 A 硫酯酶'	-10.53341842	

[0095]

'Amuc_0666'	ACD04503/ NC_010655.1 (783434..784846)	SEQ ID NO: 24	'3-异丙基苹果酸脱水酶'	-10.51279975	
'Amuc_1101'	ACD04927/ CP001071.1 (1315394..1317178, 互补体)	SEQ ID NO: 25	'假设蛋白'	-10.41174461	否
'RS01655'	ACD04132/ NC_010655.1 (347442..350402)	SEQ ID NO: 26	'糖苷水解酶家族 2'	-10.07979812	
'Amuc_1914'	ACD05727/ NC_010655.1 (2322961..2324121, 互补体)	SEQ ID NO: 27	'限制性核酸内切酶亚基 S'	-10.0212794	
'Amuc_2021'	WP_052294492/ NC_010655.1 (2454651..2455214, 互补体)	SEQ ID NO: 28	'含 NUDIX 结构域蛋白'	-9.969072021	
'Amuc_0920'	ACD04752/ NC_010655.1 (1099438..1100859)	SEQ ID NO: 29	'糖基水解酶家族 109 蛋白 2'	-9.854550941	
'Amuc_1230'	ACD05055/ CP001071.1 (1478807..1479622, 互补体)	SEQ ID NO: 30	'假设蛋白'	-9.826157438	否
'RS02010'	WP_042447573/ NC_010655.1 (423450..423878, 互补体)	SEQ ID NO: 31	'假设蛋白'	-9.77626983	
'Amuc_1558'	ACD05379/ NC_010655.1 (1870950..1872395)	SEQ ID NO: 32	'RIP 金属蛋白酶 RseP'	-9.751983353	
'Amuc_0029'	ACD03876/ NC_010655.1 (37306..38232, 互补体)	SEQ ID NO: 33	'dTDP-葡萄糖 4,6-脱水酶'	-9.659119296	否
'Amuc_0077'	ACD03922/ NC_010655.1 (100094..101293)	SEQ ID NO: 34	'甘氨酸 C-乙酰基转移酶'	-9.642209742	
'Amuc_1974'	ACD05787/ NC_010655.1 (2396408..2399152, 互补体)	SEQ ID NO: 35	'丙酮酸磷酸二激酶'	-9.498736149	
'RS08560'	WP_012420638/ NC_010655.1 (1926953..1927837, 互补体)	SEQ ID NO: 36	'含 DUF3472 结构域蛋白'	-9.464857006	
'Amuc_0253'	ACD04096/ NC_010655.1 (310853..311722, 互补体)	SEQ ID NO: 37	'M23 家族肽酶'	-9.42611747	
'Amuc_0078'	ACD03923/ CP001071.1 (101329..103947, 互补体)	SEQ ID NO: 38	'含 PEGA 结构域蛋白'	-9.419373842	

[0096] 表3. 强饲后7天盲肠中的具有增强丰度的基因的代表性数据。

基因	登录号蛋白质/基因	基因 SEQ ID NO:	注释	Log2 倍数变化
'Amuc_0996' (AMUC_RS05350)	ACD04824/ NC_010655.1 (1188201..1189811, 互补体)	SEQ ID NO: 39	'ABC 转运蛋白 ATP 结合蛋白'	0.888546921
'Amuc_1213'	ACD05038/ NC_010655.1 (1450497..1450940)	SEQ ID NO: 40	'假设蛋白'	1.058687453
[0097] 'Amuc_2133'	ACD05942/CP001071.1 (2599892..2600839)	SEQ ID NO: 41	'假设蛋白'	1.546616436
'Amuc_0460'	ACD04298/ NC_010655.1 (548882..549403)	SEQ ID NO: 42	'假设蛋白'	2.419575989
'Amuc_0215'	ACD04058/ NC_010655.1 (265829..266431, 互补体)	SEQ ID NO: 43	'PEP-CTERM 结 构域蛋白'	2.957572311
'Amuc_0882'	ACD04715/ NC_010655.1 (1052357..1052686)	SEQ ID NO: 44	'假设蛋白'	3.707186328
[0098] 'Amuc_0922'	ACD04754/ NC_010655.1 (1103658..1105115, 互补体)	SEQ ID NO: 45	'双官能金属磷酸 酶/5"-核苷酸酶'	3.903077196
'Amuc_1560'	ACD05381/ NC_010655.1 (1874068..1874856)	SEQ ID NO: 46	'含 PEP-CTERM 分选结构域蛋白'	4.47721439

[0099] 表中发现的与NCBI蛋白和基因登录号相关的所有序列均通过全文引用并入并且可以在www.ncbi.nlm.nih.gov/[ncbi.nlm.nih.gov]中发现。阿克曼菌属的基因组序列可以在登录号:NC_010655.1下发现,其内容通过全文引用并入。

[0100] 参考文献

[0101] 1.Goodman等人(2011)《自然实验手册》6(12):1969-1980

[0102] 2.Plovier等人(2017)《自然医学(Nature Medicine)》23:107-113

[0103] 3.Derrien等人(2004)《国际系统与进化微生物学杂志(Int J Syst Evol Microbiol.)》54:1469-1476

[0104] 这些参考文献针对与在实例中描述的方法有关的具体细节以其整体并入。

[0105] 实例5:阿克曼菌属与胃肠道中的粘蛋白层相互作用

[0106] 从如实例4中所描述的小鼠取出肠样品,切片并且用针对粘蛋白和阿克曼菌属的抗体进行染色。如图5所示,阿克曼菌属与肠道内的粘蛋白层紧密相关。

[0107] 进一步地,还在小鼠中检查野生型阿克曼菌属或突变体Amuc_0544的能力。获得近端结肠和远端结肠的切片,切片并且针对粘蛋白或阿克曼菌属进行染色。如图6所证实,虽然wt和突变体阿克曼菌属两者均能够定殖近端结肠,但基因Amuc-0544是定殖小鼠的远端结肠所必需的。

[0108] 序列表

[0109] 呈文本格式的序列表与本申请同时提交,并且作为提交的申请的一部分以其整体并入。

序列表

<110> R·瓦尔迪维亚

P·马尔库斯

L·戴维

<120> 用于对阿克曼菌进行基因操纵的系统和方法

<130> 155554.00498

<150> US 62/671614

<151> 2018-05-15

<160> 47

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 4476

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> pSAM_Akk转座子载体

<220>

<221> bla_互补体

<222> (1) .. (861)

<220>

<221> KpnI

<222> (1072) .. (1077)

<220>

<221> 转座子

<222> (1078) .. (2267)

<220>

<221> MmeI IR_L

<222> (1078) .. (1106)

<220>

<221> 向左反向重复

<222> (1080) .. (1107)

<220>

<221> MmeI_互补体

<222> (1084) .. (1089)

<220>

<221> BioSamA引物结合位点

<222> (1102) .. (1127)

<220>

- <221> AscI
<222> (1127) .. (1134)
<220>
<221> XhoI
<222> (1135) .. (1140)
<220>
<221> MfeI
<222> (1141) .. (1145)
<220>
<221> cat
<222> (1148) .. (1960)
<220>
<221> 终止子
<222> (1991) .. (2034)
<220>
<221> 终止子
<222> (2166) .. (2193)
<220>
<221> BioSamA引物结合位点
<222> (2218) .. (2243)
<220>
<221> P7
<222> (2219) .. (2238)
<220>
<221> 向右反向重复
<222> (2238) .. (2265)
<220>
<221> MmeI IR_R
<222> (2239) .. (2267)
<220>
<221> Bt1311启动子
<222> (2274) .. (2570)
<220>
<221> 优化的Himar密码子
<222> (2571) .. (3628)
<220>
<221> RP4-OriT-OriR6K
<222> (3629) .. (4428)
<400> 1

ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctacagcgtc tgtctatttc gttcatccat 60
 agttgcctga ctccccgtcg tntagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc 120
 cagtgcctgca atgataccgc gagaccacg ctaccggct ccagatttat cagcaataaa 180
 ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggctctgca actttatccg cctccatcca 240
 gtctattaat tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa 300
 cgttgttgcc attgctacag gcacgtggt gtcacgctcg tcgtttggtg tggcttcatt 360
 cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc 420
 ggtagctcc ttcggctctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgag tgttatcact 480
 catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc 540
 tgtgactggt gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg 600
 ctcttgcccc gcgtcaatac gggataatac cgcgccatc agcagaactt taaaagtgt 660
 catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc 720
 cagttcgatg taaccctact gtgcaccaa ctgatctta gcacctttta ctttaccag 780
 cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aatgccgca aaaaaggaa taaggcgac 840
 acggaaatgt tgaatactca tactcttctt tttcaatat tattgaagca tttatcagg 900
 ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaatagggt 960
 tccgcgaca tttccccgaa aagtgccacc tgacgtctaa gaaaccatta ttatcatgac 1020
 attaacctat aaaaataggc gtatcacgag gcccttctgt cacgcgtctt cggtagctaa 1080
 caggttgatg gataagctcc cggctctctg atgccgtctt ctgcttggcg cgcctcgag 1140
 caattgcgct cgtaagaggt tccaactttc accataatga aataagatca ctaccggcg 1200
 tattttttga gttatcgaga ttttcaggag ctaaggaagc taaaatggag aaaaaatca 1260
 ctggatatac caccgtgat atatcccaat ggcacgtaa agaacatttt gaggcatttc 1320
 agtcagttgc tcaatgtacc tataaccaga ccgttcagct ggatattacg gcctttttaa 1380
 agaccgtaaa gaaaaataag cacaagtttt atccggcctt tattcacatt cttgcccgc 1440
 tgatgaatgc tcatccgaa ttccgatgg caatgaaaga cggtagctg gtgatatgg 1500
 atagtgttca ccctgttac accgttttcc atgagcaaac tgaaacgttt tcatcgtct 1560
 ggagtgaata ccacgacgat ttccggcagt ttctacacat atattcgcaa gatgtggcgt 1620
 gttacgggta aaacctggcc tatttccta aagggtttat tgagaatatg ttttctgtct 1680
 cagccaatcc ctgggtgagt ttaccagtt ttgatttaa cgtggccaat atggacaact 1740
 tcttcgcccc cgttttcacc atgggcaaat attatacga aggcgacaag gtgctgatgc 1800
 cgctggcgat tcaggttcat catgccgttt gtgatggctt ccatgtcggc agaatgctta 1860
 atgaattaca acagtactgc gatgagtggc agggcggggc gtaatttttt taaggcagtt 1920
 attggtgccc ttaaaccgct ggtgctacgc ctgaataagt atgcgagagt agggactgc 1980
 caggcatcaa ataaaaagaa aggetcagtc gaaagactgg gccttctgtt ttatctgttg 2040
 tttgtcggtg aacgctctcc tgagtaggac aaatccgccc ggagcggatt tgaacgttgc 2100
 gaagcaacgg cccggagggt ggcgggcagg acgcccgcca taaactgcca ggcatacaat 2160
 taagcagaag gccatcctga cggatggcct ttttgcgttt ctacctgag ggcgcgcaa 2220
 gcagaagacg gcatacgaag accggggact tatcatcaa cctgttagga tctgatctg 2280
 gaagaagcaa tgaaagctgc tgttaagtct ccgaatcagg tattgttctt gacaggtgta 2340

ttcccatccg gtaaacgcgg atactttgca gttgatctga ctcaggaata aattataaat 2400
 taaggtaaga agattgtagg ataagctaata gaaatagaaa aaggatgccg tcacacaact 2460
 tgtcggcatt cttttttggt ttattagttg aaaatatagt gaaaaagttg cctaaatatg 2520
 tatgttaaca aattatthtgt cgtaactttg cactccaaat ctgtttttta catatggaaa 2580
 aaaaggaatt tagggttttg ataaaatact gttttctgaa gggaaaaaat acagtggag 2640
 caaaaacttg gcttgataat gagtttccgg actctgcccc agggaaatca acaataattg 2700
 attggtatgc aaaattcaag aggggtgaaa tgagcacgga ggacggtgaa cgcagtggac 2760
 gcccgaaaaga ggtggttacc gacgaaaaca tcaaaaaaat ccacaaaatg atthttgaatg 2820
 acaggaaaaat gaagttgac gagatagcag aggccttaaa gatatcaaag gaaaggttg 2880
 gtcatatcat tcatcaatat ttggatatgc ggaagctctg tgcgaaatgg gtgccgcgcg 2940
 agctcacatt tgaccaaaaa caacggaggg ttgatgattc aaagcgggtg ttgcagctgt 3000
 taactaggaa tacacccgag tttttcaggc ggtatgtgac aatggatgaa acatggctcc 3060
 atcactacac tcctgagtc aatcggcagt cggctgagtg gacagcgacc ggtgaacctg 3120
 caccgaagag gggaaagact caaaagtccg ctggcaaagt aatggcctca gttttttggg 3180
 atgcgcatgg aataatthtt atcgattatc ttgagaaggg aaaaaccatc aacagtgact 3240
 attatatggc gttattggag aggttgaagg tcgaaatcgc ggcaaacgg ccccatatga 3300
 agaagaaaaa agtgtgttc caccaagaca acgcaccgtg ccacaagtca ttgagaacga 3360
 tggcaaaaaat tcatgaattg ggcttcgaat tgcttccca cccgccgtat tcaccagatc 3420
 tggccccag cgactthttc ttgttctcag acctcaaaag gatgctcgca gggaaaaaat 3480
 ttggctgcaa tgaagagggt atcgccgaaa ctgaggccta ttttgaggca aaaccgaagg 3540
 agtactacca aatggatc aaaaaattgg aaggtagta taataggtg atcgtcttg 3600
 aagggacta tgttgaataa gcggccgcca ccgcggtgga ggggaattcc catgtcagcc 3660
 gttaagtgtt cctgtgtcac tcaaaattgc tttgagaggc tctaagggt tctcagtgcg 3720
 ttacatccct ggcttgtgt ccacaacct taaacctaa aagctthaa agccttatat 3780
 attctthttt ttctataaa actthaaacc ttagaggcta thtaagttg tgatttatat 3840
 taatthttatt gttcaaacat gagagcttag tacgtgaaac atgagagctt agtacgttag 3900
 ccatgagagc ttagtacgtt agcatgagg gtttagttc thaaacatga gagcttagta 3960
 cgthaaacat gagagcttag tacgtgaaac atgagagctt agtacgtact atcaacaggt 4020
 tgaactgctg atcttcagat cctctacgcc ggacgcatc tggccggatc aattccgttt 4080
 tccgtgcat aacctgtct cggggtcatt atagcgattt thtcggtata tccatccttt 4140
 ttcgcacgat atacaggatt ttgcaaagg gttcgtgtag actthccttg gtgtatcaa 4200
 cgcgctcagc cgggcaggat aggtgaagta ggcccaccg cgagcgggtg thccttcttc 4260
 actgtccctt attcgcacct ggcggtgctc aacgggaatc ctgctctgcg aggctggccg 4320
 gctaccgccg gcgtaacaga tgagggaag cggtatggctg atgaaacaa gccaacagg 4380
 aagggcagcc cacctatcac ggaattgat cccctcgaat tgacgcgtaa gggcagccca 4440
 cctatcacgg aattgatccc cctcgaattg acgcgt 4476

<210> 2

<211> 927

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 2

atgaagattc tcgtaaccgg cggcgccgga ttcatcggtt cccacattgt ggaacactat 60
 caggataagg cggaggaaat ccgtgtgctg gacaacctgc gcacgggcta tctcaagaac 120
 ctggaagggc tcaggcacac gttcatcgaa gtttccatct gcgaccgga gctggtgcgc 180
 caggcgggtgc agggagtgga ctatatattt cacatggccc cgctcgtctc cgtgccgga 240
 tccatgagca agatcagcga atgcatcgac atcaacgtca acggtttgct gaacgtgctg 300
 gaggaagctt ccgccgccgg agtcaaaaa atcgtgctgg cgtcttccgc cgccatttac 360
 ggagacaatc ccacggtgcc caaactggaa accatgtacc cggaaccaa gagtcctat 420
 gccattacca agctggatgg ggaatactac ctcaacatgt tccgggcgga aggaaaaatt 480
 aatacggcag ccgtgcgctt cttcaatgtc ttgggcccc ggcaggacc caagggcgc 540
 tatgccgcag ccgtgccc atttcattgaa aaagctgtca aaggagaaga catcacctg 600
 tatggggacg gctcccagac gcgcgatttc atttatgtga aagacattgt aggagccctc 660
 acctttgtgg cggaacaccc ggaagtcacc ggcgtgttca atgccggtta cggcggccag 720
 atcaccattg aagagctggc gcagaacatc atcaaggctg ccgggtcttc ctccaaggtg 780
 cttcatgccc cggaacgtcc gggagacgtc aagcattccc gcgcctgtgc ggacaagctc 840
 cgcaatgccg gatggcagcc caggcatact ttgccggaag gcctggcgac gacgctggaa 900
 tacttcaagg gcattctggg caggtaa 927

<210> 3

<211> 1290

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 3

atgttcccgt ttctcctgt tgtccgttct ttctgtttt cctgtttga aaggcatg 60
 ctgagggctg cgttgtgctt ctgcctctgt acggcggtat gcgcctcctg ctccgtggac 120
 aggcacatgg aaaaaaggc gggggaattg atggccagga tggatgccgt tcccattgg 180
 cggcagctgc cgcggaagga aatctcatgg caccaggccc tggcgatgat gatggagcgg 240
 aacattgact tgaaaaaatc ggagcagtcc ctcaagacga cgaaacgttc cgtcgtaaat 300
 gtttttacc agattatccc cggagtcaat ctggactgga tgctgaccaa ggaattgagc 360
 gacctggcca ggtgacggc cagcgatgtg gaatacaata cgaacattct gttcaacatg 420
 ccgtccctca ccagatccc gtttgattat tattccgcca aggcggctgt ttatacggcg 480
 gaaaagacgc tggagatgaa aaaaaggag ctggtggcca gattgtacca gcaggtgctt 540
 tcctaccgga acgcgcagat cagctacaat aaccagctga gctccctgcc ttatgacgat 600
 gatggcgtcc agaaaaagaa gctggacctg gaacgggagc ggaatttgaa tgagatttcc 660
 caggggtttg ccgtgttget ggggaatatg gacgcccggt ggctggtgaa ccctgaaacg 720
 atgccaggc tggactgggg caggtacagg gcggcgtccc ggcagctgga tctgctggtg 780
 gtgacgatgg tggccatgga gctggaagct tcccgcctcc aggtgctgaa tgccaaactg 840
 aagttcttcc cgtccgtgga tattaatttt tacagccaa ccctgttttc cagcacgggc 900
 gggacgtacg gcggtttttt tgcgggagcg ggcgatatga aggtgaacat gagcctgcgg 960

gaagaactgg atacgcgcct gacatcctgg ttccagtata agtcggccaa agaaagccac 1020
 gaactgctgc agcgcgaagt ggtgatggaa ctgcagcggc ggcgtatcaa gatagccgcg 1080
 ttgctggaga gccgcaggag gtttgagctc tggcaggggg tgctgatgaa ggaaatcgcg 1140
 ttcaaggagt ccagattatc cgtttccgga gatgaatata tggaacagag gaaggatata 1200
 aggaaaatgt atgctgacct ggataatgaa gcttccaaga atgcggaggt ggaagcggcc 1260
 ctcatcatgg aatatggctg gctgaagtaa 1290

<210> 4

<211> 759

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 4

atgaaagtat cttttgcaac acaccagtta cgcagggggg ttaccctgat tgaactcttg 60
 gttgtcattg ccattatcgc cctgetgget tccgtggcct atggtcctat cctgaaccag 120
 atcaacaaag gcgaccagat gcaggccctg accaacaatga agaactggg cgtagcgatg 180
 aacgagttca aatccaacag caaactgggc aatttcccc atgacatcac tgccgaccgc 240
 gttgttgccc agcataatta tatgagcggc ctgggcgcac ttcagggcga tacttccaat 300
 gactatttcc gtcagcttct gggcaatgag tctgtttccg aaagcaactt ttacgccaaa 360
 gttcagactc cttccggcgg ttccaccgtt actcccaacg gtgaaattta cgacggtcag 420
 gccctgacc ccggtgaagt gggatatttc tacgtcatgc gcaagggtga caataacaag 480
 aaagtgggta ttggaagttc cgtgggggaa tatcccctga tggtcacttc cgtgcttctt 540
 ggtgaagacg gcagcaccgt tgtggctggc aatgccgtgc gttttgacc ggaaagcttc 600
 cgcggcaagg ttctgatttt cacgactgcc cagagtgcc agaccctgga actggacgac 660
 aacgacaacc ttcaggatac cttcattccc aagagaagg gcaaggacat cagcagaccag 720
 ttctgatcc tcacgcctga tttcagcggc caggagtaa 759

<210> 5

<211> 1023

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 5

atggtattgg ccgactgtc ctccctggtt ccgtccatgg ccagaatgc ccagaatccc 60
 cagcgcctgc gcgccagagt tgccgcaccg accatcaaga atggccgtcc gacggatata 120
 tacattcttt cctccaatgg acccacggtc cagtttggg agagcaggga atcccaggaa 180
 gtccttcagc agatggccag gccttcaag acgtgtata tttttgaaac ggacgacttt 240
 gtggatgcca aggtggctat ggaaaaccgg aagtaccagg aagcccgcaa caaattccac 300
 gctctggatg ataagtatgc ctcaacgctt tccatcaagg acagcctgtc cgcccgggcg 360
 gccgtctatg aactggagt gcctatgcgc atgatggatt gggctggagt caaagggttg 420
 gcggccaagt ttcccgtcag aggggccaat ttgtcccctt ccgccagaa tgacctggag 480
 gtggcaaaaa tcatggcctt gattccagat aaggactgga acggcgtgaa aagccgtgcc 540
 ggttctttcc tggcaaccaa aaagaatgcc accgcctcc agcagcgcg gatgaaatat 600

gccctgggtg cggccgcat ggtggcccag gattggaaca aggcgctgga ttatthttgcg 660
 gaagccctgg ttttgttgca tggttccgat gaagaactgg cgtctgcctg cgtggcccgc 720
 tccctggatg cctacctgcg catgccgat gttgtcaaat tctttgagaa tcccgtcgtc 780
 tcatctgccg tggaatccag gaagaataat cccgaagctg tgattccgga ttcacggctg 840
 aagtcccgtc ccgttcctgt caaggaagcg gctgccctgt accgtttgca tgaactgatg 900
 ttcccggaca ggaagctgcc ggccaagtat gacggttttg cggtttccta caagcatccg 960
 gccgctgttg ctcccgcaa ggctcctgac caggctcccg cacagccgca gaataagcag 1020
 taa 1023

<210> 6

<211> 3234

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 6

atgatcaaat caaactatac tactgcaactg gctgcaggcc tggtttccgt gctgagtatc 60
 ggggcggttc ttccatccgg cgcccagcat ggcccgcgcg attaccagcg cacggccctg 120
 acggccatta aggaagggaa gtggcaggaa gccctggatg ccgtggatcg ctgcatccgc 180
 gtttatgaac cccgtatcaa gatgctgggg ctggatgacg gcttcggctg gttctattac 240
 cagaagggcg tctgtctggc ccagctgaaa aattacaagg aggctgtgga agcgttcaag 300
 gcttgttaca ccaagtttcc gagcgctaaa aaccagctcg tgaatggc cctgttccgg 360
 gaaggggaaa actactgccg tcttgggat tttgccaagg gtgcggagct gctggaaaaa 420
 ttctgaaaag aataccgag cgatcctgtc gccagaaacg tcaatgctgg cgaagtgcag 480
 gggcttctgg cccaatgcta tttcaagatg tctccgctg cttttgaaa aggatggaa 540
 aaccttacct ctgctgcac gtcacgtac aaggccgcc gcattacgga tgccgttatt 600
 accaatggct ttctggcgat ggtggatgcc gccattaaga ccggcaaatg cagtgcagc 660
 gtgaagtttg tggaaaacta cccttccgtg atgaatatca gtcccacgcg tgtggctttg 720
 tacaccccg gcctggtag ctacgttgcg gaagtgcctg agaatcccg ttccctgctt 780
 caggatggaa agcagaaaga gtctgaagat tatgcttccc tggcgatggt gctgatgggt 840
 cttcttcccg atcagtcgag agtaatggcg gatgccaatt attccctgga tcgtctgggc 900
 cgtgccaacg gggccgtgcc tggcgtgacg gatttttccc atacgtgga cagagcgaag 960
 gtgacggccc tgatcgacca gttcaacaag atgaaggagg aaggaaaggt catggacgcc 1020
 ttcacgttca gctttatggg caaccaggcc ctggtgcatg gttcccaaag ggttgcccgc 1080
 gccgcctacc agcttatcaa tgaatctac ccggatgctc cgggcaggga ggataacctg 1140
 tattatctgg cgatgaccac ctggcagctg ggagaagcgg acaaggagg cgagcttgtg 1200
 gcgcagcacc tgaaggaatt cccaattcc aagtatgcc ccatgcttaa tacgtgtct 1260
 ttggaagggc ttctgaagga aaaaaattc gatctctgcg ttcagcaggc ggacaaggtc 1320
 atggagtgcg ataaggatga cccaccat aagttctatg aactggccct gtactgaaa 1380
 ggagcctccc tgttcaacct gggggctgcc gacgcctccc gttataagga agcggtgccg 1440
 gtgctggaac gcttctgtaa ggaatacctg gacagcactt atctgaaaac ggccatgtac 1500
 cttcttgggtg aaacctacac gaacctgggc aatacggatg aagccatccg gtcctttacc 1560

aattacattg cccgtttccc ggacaagggg gagccaata tggccgccgt attgtatgac 1620
cgggccttca actacctgaa ccgcaagaac cccggagacg aagagcttgc cgcgaaagat 1680
gcgaaggaaa ttgtggacaa tttcaaggac caccgcctgt tcccgtatgc caacaatttg 1740
ctggctaatac tgtgtgccgg cagcaaggag catgagcagg aagcggagg ctatttcctg 1800
gccgctctgg agtccgcaa gaagctgggc gacaagcgtc ccgctgcgga agccgtgtac 1860
aacctgttta ttaacgctac caagaagcct cttccggtag aaccgaagga agccgtggaa 1920
acggccagga cggcgcgccg ggacgaggtc aagaaatggt atgacgagta ctggaaagac 1980
agcgaccagc cggcgagccg ctacagctc cagctggctg ccgccgcat ggacttcttt 2040
aaggatgaca aggagatggt tgaccggca tccgtcaaga tgcaggaaat tattgtgagg 2100
gaaggcaaga aggacgatcc caagatgacc gttcttctgg aagaggcct caattcctat 2160
accaagacgt acatggccgg caatcaggcc ctgggcccga atctggatgc caatgccatg 2220
cgcaaccact tctaccggtt ccccggcgtg gacaatgata aagacaagac gctgagcgcc 2280
atgcttcgca tggccgttat tgcccagact caggaacggt atgaaaaggc tctgtggag 2340
acggacgaac agcgtgccga gaaagccgcc ctggaagtc tggtaagca gctcttcgtg 2400
gagctgaagc gcgacttcaa gccttccgat ctgccccgt acacgcttgt gaagcttggc 2460
atgcacctgg ccggcacttc ccagcctgaa gaaagcatct cctactttga tgaatcctg 2520
gaccgctcgg aacctgacct ggtgcgtaag aaggcccga tcaacggcat gtccaagtac 2580
cgcaagaatg cggctctcgg gaaagccgta gctctggggc gcagcaagga taacgccaag 2640
gtggacaccg ccatcaagat gatgaggat gaactgagca aggaagaatc cagctccaac 2700
ccggaccgca aggccatgga agacgcccag tacaatctgg tcaagttcac ttccgcccgc 2760
caggactggc cggccgtcat tgccgctgcc gacaagtacc gcgaaaacia gacctataag 2820
aagaatctgc cggaaatcct ctatctgcag ggtgaagcct acctgaagca gaatgagctg 2880
gacaaggcgt tgattaactt catgaacatc acgggtactg acaaggggct cgtgaagtgg 2940
tccgcccccg ccgtgctggc gcagatggat acgctgtgga agaggaatac gatgtcccag 3000
ggtgcgggca agcagccttc cgacaggtac gttgcctgga aggccggcag ccagtacgtg 3060
cagttgctgg atactcccgc caaccgcaag aagatgacgg cggaggacag tgccctggtc 3120
aatgaggatg aggataagac ggccaagttc gttccgatc ctgccgtcag ccaggaacgg 3180
gcggacattg ccgcctatga agcagccgta cgcgccgcca agggccagaa ataa 3234

<210> 7

<211> 1785

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 7

ttattttgta aagttcacgg gaatgggcgt ttttaacgga agcaccagct tgaagggtac 60
aaaggcccct gccgccgct ccaccttggc gtcttggct cccagttcca tgatctggcg 120
ggcttccagt ttgacgtctc cgggctttaa agtgaacagg gattccttgt tcccgtctat 180
ttttgcctgg aggtcctgga tgattctctg gccgccagc ctgcgccgga cgaatccggt 240
caggcggatg gcgttgacgc tgtaaaccgc cgttccatcc tcgctggatg cgttggcgga 300
ggcctccgtc ctgatgtcat ccaccaggga tgtatTTTTG tccgatgtga aggaatcctt 360

gatgacggaa tatcccgtaa tttgggtggt atcctccgga ttgaagtggg ccagcggttc 420
aaaatccgta aaccagtagg gataatcctt gtgttccgac tgttccagca ggtgcctgat 480
gatgtccgcg tagccgtagc gctgaagcgt gagctgctgg taggaagcca gggtaggagtc 540
cagttttttc agctcctggt ctttctggcg cagggcggat tgtgccgatt tgatggaagt 600
aacggtgggc tggacgccgg cgaggatttc ctccgccttt ttctcgccca tatatcctgt 660
gacggcataa gctgcggcac caagaacggc aatggctgcc ccggcgatga tggcgggcat 720
ttttttctgg ttggcccgtt ttttggcaac tgcggtgggt tccaggtcaa tattgagga 780
ggccctgccg atggagtga tggcgggtgcc gatcaatccg cccaggtatga aggcttcgcg 840
ggagatggtg ttcacgtcca cgccggagcc cacgcccacg ttgtgcatgg ggttgaagaa 900
ggagatcgga atgcccagtt tatcttccag gaattccttg gtatagggca gggaagctcc 960
gccgccgac aggtatgcct tgacgggagc gcttccgctc atctgggcgc ggtaatgggt 1020
ggtggtccgc tggatttctg aggcaagcct ggtcatggcc gtacggatga cggtagccag 1080
attggccgtg gcgggatcca gcccttccgt ttgcccgttg ctcatggaaa cgagcccgt 1140
ggtggttttc aagcgttccg cttccaggaa gggaatattg aattcacggg cgatagcgga 1200
ggttacgaag attccccccg cggaaatgct gcgggtgaag aaacgtccct gttcgtctgta 1260
aatcaaatcc gtggatttgg cgccgatgtc gatgagcatg accggttctt tctcatccgg 1320
ataactgtcc acatacgc atgtacagaga ggtaagcgcg cagtccactt tgccggtgga 1380
aaggccgtgg gagacgattt catcattcag ggagtccagg tcttccgctt tgatggcaac 1440
caggatggct tcccgttcca gaccttggc gggaagcaga tggtagtccc acacgacttc 1500
gtccagcggg aaggggacgt gctgctgggc ttcaaagcgg atgagctggt ccacatcgg 1560
atcgtccaga gccggaagct tgacgaagcg gatgaaaacg gattgtccgg aaacggaata 1620
gttgacgacg cttccttga cgttgagttc ctggacgagg tcggcgatgg cttcccctat 1680
tttcgtcagg cgcaaacctt ctgctgacgg gtccagcact acgaggcgcg tagcatagcg 1740
gtccaggata agggcgtctt tggaaagtctt ggaaaagacg cccat 1785

<210> 8

<211> 717

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 8

atgaaatcca tccttaacac tatcacggcc atgctggctg cgggtctttt cgtccctgcg 60
gcatcggcgc agaccaccag caatcccaga atgcaggtgc gggctctcct ggaaaagctg 120
tccctgtata tgcgccagtc ccccaacgtc ctgacgcagg acgatccccg gccgctgccg 180
aaaccgaaga aatgggcgga ttttgaatt cccttcaagg tggaaagcgc tcccaccccc 240
aaatccggct atattgatgc cctgacgttc aaattctaca tcgcggtagt caatccggac 300
cgctcccgcc agtatctgaa actgtataag gaagtcaaat acgtcaatgt tccggtagga 360
gaaaacacgt acgcttccgt gtatctctcc ccgtctctcc tcaagcgc ataccggtgtg 420
gaaggaggaa gaggaaaaat ggtgaagtac cagggcgtag tgggtggaata caacggcaag 480
attgtcgcca cttattcctc cgaacgcggc aaaatgga aaatggtggac catccagctc 540
cccagcatcg tggagacctc ttattacccc ctgctgaaca aggatgaaac tcctttctcc 600

gtgttctggt acgaccgtta tccggaatt atgaggccca acagccagca ggcggcttcc 660
agttccgtcc ccgccccgtt cggctactcct gtggaacctc cggcggacgg cgaataa 717

<210> 9

<211> 777

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 9

atgtgggtca aagtatcaat agcagccttg gtcattgctc ttctcggagg agccatgtat 60
tatcttgata acgaggaagc tctaaccaag gagcgtaggg aatgtgcttc ccgctacaag 120
aacctgaacg gccttcgtgg cgaatttacg gaagaaaaga cgaatatgt cgatttcctg 180
gtgaagaatg aggctctgac gaatgacatc aatgctttaa ccaaggagaa ggatgaactg 240
gaagtaaaga atcaggaatt ggctcagcc aatgaggcca agaatctga cttcaaacg 300
cagcaaaccg ctttgccgga attgcaatcc aagagtaagg atatggaaag tatccaagcc 360
attgctgaca gaatcaaggg gctggaagaa gactccaagc agttggaagt ggttaagcag 420
gcggaacagg gaaaacatga tgccatcgtc gctgaaactg aacagcttgt tgtgaataat 480
gccgctcttc gtcagctcaa ggccgaccag gatgcccgcc tttctccgcc caacctgaaa 540
acgagggttt cccagtgat tcatgatttt aatgtagttg tgattgacgg aggagccgcc 600
gatctgggcg tggtgcccgg ttccaagttg gccgtcatga gggacggcaa caaaattgcc 660
gagcttgacg taaacgctgt tgaatcccgt gttccacgg ccaactattct accaagtacg 720
gtaaccgccg gcgaacgtgt tgaagccgga gacgtcgttg tatctgttcg tcctag 777

<210> 10

<211> 1248

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 10

atgagccttc atatagaacc cacggaagac gcagtggaaa ccctgcgcaa ggaaaggcgg 60
aaaaattata ttgccgcatc agcgacatcc attctctccg tcgttttggc aggagccatt 120
ctctactccc tgaccatcat catcgcccct ccggaagaac ccaaagtcgt cggctacatc 180
acgccggacg atgcgccgcc gtcggatacg cctccgccgc cggaagtaca gagggaaact 240
tcctcttctc cccatgcgga gacgcccgtc aaggctgtgg tggcagcggc cgccgctccg 300
gtgagcctcc ccaagatcga cattgaccgc cccgatgaac ctgtcatgct ggaggagga 360
accgccctcg gcatggggga cggttcggc cccgacctgg gagacgtac ctccgccttt 420
ggtacgtcca aaccctccgg aagcacgctg gtaggtacct tttacgacac caagcagact 480
cctggcggac gtccctacca catgaacatg aaccagtaca gggagtctct tcccgccttc 540
gtgaacaaag gctggaacga atcggaactg aaccgttttt acaaggctcc gcaacaatta 600
tacgcagccc agttctacat acctaggact cccgcaaag acgctcccaa ggcctacggt 660
tgcgatgaca aagtaaagcc tagccagtgg ctgccattt accggggaaa agtacgcgcc 720
cccaagtccg gcacgttccg attcgtgggg ttgggagacg actacttagt agtacggttc 780
aataaacaga atgtcttcga ctacggctgg gaatccgctt ctctggggaa aatgacggca 840

aacaacgcca aatggcttga tgccatggaa ggcaaaccg gcaatgacga cttgaaaaag 900
 gaactccggg aagtgggcat caatgtcccc cccgttacgt tctacaaata cagtttcttc 960
 gggcactgga acaacactat gcgcggtgtg gcagccggca agcagttcac ggtggaacag 1020
 ggcaaggttt accccattga aatcctagtt agtgaagtc ctggtggcga attcggcatg 1080
 actcttctgc ttgaagaagt tggaatggcc cccatgagca aggatcctaa aacgggagct 1140
 cccatcctgc ccctgttccg aaccaactac ggcgttccga aaccggacaa gaacaaggaa 1200
 cacgtgccat ttgacgaaat cggcattgtc tgggaatcca tcaaataa 1248

<210> 11

<211> 1383

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 11

atgattgaaa cgattacaga agaacagttg actccccagc aggccgaatt ttgggtgctc 60
 gcccgccagg cgggtggacat gaacaattat ccctatgccg tcagcctgct caaggccctg 120
 gtaaagcagc tccccggttt tctggaagc cgcaaggcgt tgcgcgctg tgaatcaaa 180
 ttgaatccgg aggccaagag aggggggctg ttcagcgta tgaaaatcag caccagcaag 240
 ctacttctt ccaagaagga cgcggtacc cagcttccg ctctggaaga cgaattggaa 300
 aatgatcctt acagcattcc ggtaaacgag gccctgtaca cggctgccat ggaagtaaat 360
 ttcccgatc tggccgcttt tgctctggag accgttcgcc aggggcatcc cggcaacaag 420
 aaaatgctcc acatgctggc ctcccattac gtttcccggg atatgccggc ccaggctgctg 480
 gaagtgtacc atgacctgt gaagctggat cccacggaca gtgtggccgt aaagagcgaa 540
 aaggactgca tggcgcgctc cacgatgcag cagcagaagt gggaggaggc taaaagcttc 600
 cgggacgtga tgaagaactc gtcgaaacg aacaccctgg acaagagcga caagaaaggg 660
 ctaccccgctg cggaactgga agagcgctg gggcttctct cegcccgtta cgcccagaac 720
 cagcaggatc tggccgtcgt gcgacatt gccggcgttt atgaacaaat ggaagattgg 780
 gccaatgcct attccttcta taattacgcg ttcagcctca gcaacaatga tatttccctg 840
 gaaaacaagg cctcggaaat gaatgagcga tgccgcaagg cccaggtgga ggaatccgc 900
 cgccgcgctg ccgcgagacc ggataataag gaacttcagg aacagcttgc ccagttcagc 960
 aaggaagctg cggagcagca ggtggcctt tgccgccagc gtgtggaaaa caaccccacg 1020
 gacccgcaaa cccgttttga gctgggccag gccctcttcg actgcggcaa ttacacggaa 1080
 gccattccgg aactccagcg cgcccgaac aatcccata tccgatccg cgccatgctg 1140
 ttgctcggca agtgctatga cgccaagaac atgcatgata tggctctgctg ccagctggag 1200
 gaagccaata aggaattgat agaaatgaat gacaccaaga aggaaatcct ttacatgatc 1260
 ggcttgcttt gtgaaaagca gggcaagaag ggggaatccc tggctgcatt ccagcagatt 1320
 tacgacccg agtacggcta ccgacgctg gccagcgctg tggaatcctc ttacggcaat 1380

tag 1383

<210> 12

<211> 462

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 12

atgttcaaca tcgtgagatt caccaggcgt acctgtccgg cattggccct cacgctggcc 60
 cttacttcgt gcgacagcag tacgaatgaa gccctgacct ctttctgac ggggaattca 120
 tcccaggaac accagcagct ccaggcccag ctccagcaaa tgaaaaacgc actggcccag 180
 acggaacagg aaataagcca ggcggaatcc cacgatgccc gcgttaatta caatcttcag 240
 aaaaggcttt ccaacccggg aagaatcacg acgcccttca cggatgaagga tatagatgtc 300
 ctgccttcca aacgccgcga cttcgagcac ctgtgctttg acattgaaga catgcgcaaa 360
 acgctggcgc agcgcaagca ggaattccat gccctgcaat atcaatataa cgcgtatgcg 420
 gccaaactgg ctgaattcaa acaaaccac cggtagact aa 462

<210> 13

<211> 747

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 13

atgccaaaaa tcgttgttca atcctgcatc atctgtatga gatatttttc caagcattcc 60
 ggaatggctc cgcgctgttc ctgcgccggg agcaagggt ttaccctggt ggaattgatt 120
 gtcgttatca ccattatggt tgccatgatg gccttggccg ccagcatggt gaggggcggg 180
 ggcagggggc aggggcttca ggccgccgtt gaaatggtgg acggcatggt gcaggaggcg 240
 cggctggatg ccatgggcaa aggaacgtgg agccgcctga ttattgtgag cactcccgat 300
 gacgaagccc gcaatatgcg cactttgggc gtgatgtcca aaaataccg caccgggaaa 360
 tggcatctgg tgaaccgttt gcagactctc cccgccggtt tttacgtcag tccggcctac 420
 agcacccttc tggaaaggctc gaagaaagcc agaggcgaga aatccacggc ccgcggtttt 480
 gccagccgtg acgggcagga tacgtcaac cttcccggca acagaatgac ggatatttac 540
 ttattgaat ttgacgagga aggccgatg tcccagccga acgccccac ccgcctggtg 600
 gtggttgccg gttccgccgg aaacggcaag gaggagaggc cgacccgat ggtggacggc 660
 aaaccgggcc tggcaggcgg cattgtgatt tatccaaag gcaatatcag ccgtctgagg 720
 acgacggagc aggtgattcc caattag 747

<210> 14

<211> 801

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 14

atgttgacca agtgtatgaa acagtctcgt gccaaagggt tcaccctgac ggaagtgggtg 60
 cttgcgatcg gcgtgggtggc cgtgctgatt gtagtgttca tggccatggt tattctgcc 120
 agaaggacgg ttcagtccgc cctgactatt cgtgaagcgg accgcatcgt ccacgccctg 180
 acggcggaac ttggagaact ccgcaattcc gagcgtgccg cgtccaacgc cagaaagtct 240
 tcctcctcca gatatgtttc cgcttttgac aaggcgtttt actggatgca gttcacgtcc 300
 aggcccgcta cgaccattct tgtttacaat tacaggcggg atttgaccaa gggggcccgc 360

aaagacggaa ctccccagcc ctggctggag gatggcggaa gcattcccgg caaaaatact 420
 gcggtggtga caggggtctg cctggcgaac aacaaagagc gttgggatga tttcaaggcc 480
 cttgtcggtc ccgtcttcgc cgtgcgcatg acccagctgg tagtggagcg catggattca 540
 agctcctacg ggtacaagct ggctcccaag tacgggacga tttataatcc ttacaaccgc 600
 ggcaaggtga ttaaggaacc ttccctgtat gtttatacgc cggagaaagg cggcggcctg 660
 aatttgccgt ggggggcgga agtccctgtac caggcggagt tcttccagct gttgaatacg 720
 gaccccagc gtttacaaca tctgacgtgg gaaaatttaa agactcccgt gtttacgcgc 780
 aatctcgctt tccgccgtta g 801

<210> 15

<211> 759

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 15

atgaaagtat cttttgcaac acaccagtta cgcaggggtt ttaccctgat tgaactcttg 60
 gttgtcattg ccattatcgc cctgctggct tccgtggcct atggtcctat cctgaaccag 120
 atcaacaaag gcgaccagat gcaggccctg accaacatga agaactggg cgtagcgatg 180
 aacgagttca aatccaacag caaactgggc aatttcccc atgacatcac tgccgaccgc 240
 gttgttgccc agcataatta tatgagcggc ctgggcgcac ttcagggcga tacttccaat 300
 gactatttcc gtcagcttct gggcaatgag tctgtttccg aaagcaactt ttacgccaaa 360
 gttcagactc cttccggcgg ttccaccgtt actcccaacg gtgaaattta cgacggtcag 420
 gccctgacc cgggtgaagt gggatattcc tacgtcatgc gcaagggtga caataacaag 480
 aaagtgggta ttggaagt cgtgggggaa tatccctga tggtcacttc cgtgcttct 540
 ggtgaagacg gcagcaccgt tgtggctggc aatgccgtgc gttttgacc gaaagcttc 600
 cgcggcaagg ttctgatttt cacgactgcc cagagtgcc agaccctgga actggacgac 660
 aacgacaacc ttcaggatac cttcattccc aagagaagg gcaaggacat cagcagaccg 720
 ttcctgatcc tcacgcctga tttcagcggc caggagtaa 759

<210> 16

<211> 3234

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 16

atgatcaaat caaactatac tactgcactg gctgcaggcc tggtttccgt gctgagtatc 60
 ggggcggttc ttccatccgg cgcccagcat ggcccgcgcg attaccagcg cacggccctg 120
 acggcatta aggaagggaa gtggcaggaa gccctggatg ccgtggatcg ctgcatccgc 180
 gtttatgaac cccgtatcaa gatgctgggg ctggatgacg gcttcggctg gttctattac 240
 cagaagggcg tctgtctggc ccagctgaaa aattacaagg aggctgtgga agcgttcaag 300
 gcttgttaca ccaagtctcc gagcgtataa aaccagctcg tgaaaatggc cctgttccgg 360
 gaaggggaaa actactgccg tcttgggatg tttgccaagg gtgcggagct gctggaaaaa 420
 ttctgaaaag aataccgcag cgatcctgtc gccagaaacg tcaatgctgg cgaagtgcag 480

gggcttctgg cccaatgcta tttcaagatg tctccgctg cttttgaaaa agggatggaa 540
 aaccttacct cttgcgtcac gtcacgctac aaggccgcc gcattacgga tgccgttatt 600
 accaatggct ttctggcgat ggtggatgcc gccattaaga ccggcaaatg cagtgagacg 660
 gtgaagtttg tggaaaacta cccttccgtg atgaatatca gtcccacgcg tgtggctttg 720
 tacaccccg gcctgggtgag ctacgttgcg gaagtgctgg agaaatcccg ttccctgctt 780
 caggatggaa agcagaaaaga gtctgaagat tatgcttccc tggcgatggg gctgatgggt 840
 cttcttccc atcagtccgg agtaatggcg gatgccaatt attccctgga tcgtctgggc 900
 cgtgccaacg gggccgtgcc tggcgtgacg gatTTTTccc atacgtgga cagagcgaag 960
 gtgacggccc tgatcgacca gttcaacaag atgaaggagg aaggaaagg catggacgcc 1020
 ttcacgttca gctttatggg caaccaggcc ctgggtgatg gttcccaaag ggttgcccg 1080
 gccgcctacc agcttatcaa tgaatctac ccggatgctc cgggcaggga ggataacctg 1140
 tattatctgg cgatgaccac ctggcagctg ggagaagcgg acaaggagg cgagcttgtg 1200
 gcgcagcacc tgaaggaatt ccccaattcc aagtatgcc ccatgcttaa tacgtgtct 1260
 ttggaagggc ttctgaagga aaaaaattc gatctctgcg ttcagcaggc ggacaaggtc 1320
 atggagtgc ataaggatga cccacccat aagttctat aactggcct gtactgcaa 1380
 ggagcctccc tgttcaacct gggggctgcc gacgcctccc gttataagga agcggtgccg 1440
 gtgctggaac gcttcgtgaa ggaatacctg gacagcactt atctgaaaac ggccatgtac 1500
 cttcttgggtg aaacctacac gaacctgggc aatacggatg aagccatccg gtcctttacc 1560
 aattacattg cccgttccc ggacaagggg gaggccaata tggccgccgt attgtatgac 1620
 cgggccttca actacctgaa ccgcaagaac cccggagacg aagagcttgc cgcgaaagat 1680
 gcgaaggaaa ttgtggacaa tttcaaggac caccgctgt tcccgtatgc caacaatttg 1740
 ctggctaate tgtgtgccgg cagcaaggag catgagcagg aagcggaagg ctatttctg 1800
 gccgctctgg agtccgcaa gaagctgggc gacaagcgtc ccgctgcgga agccgtgtac 1860
 aacctgttta ttaacgctac caagaagcct cttccgtag aaccgaagga agccgtggaa 1920
 acggccagga cggcgcgcc ggacgaggtc aagaaatggt atgacgagta ctgaaagac 1980
 agcgaccagc ccggcagccg ctacagcctc cagctggctg ccgccccat ggacttcttt 2040
 aaggatgaca aggagatggt tgaccggca tccgtcaaga tgcaggaaat tattgtgagg 2100
 gaaggcaaga aggacgatcc caagatgacc gttcttctgg aagaggcct caattcctat 2160
 accaagacgt acatggccgg caatcaggcc ctgggccgca atctggatgc caatgccatg 2220
 cgcaaccact tctaccggtt cccggcgtg gacaatgata aagacaagac gctgagcgc 2280
 atgcttcgca tggccgttat tgcccagact caggaacggt atgaaaaggc tcctgtggag 2340
 acggacgaac agcgtgccga gaaagccgcc ctggaaggte tggtaagca gctcttcgtg 2400
 gagctgaagc gcgacttcaa gccttccgat ctgccccgt acacgcttgt gaagcttggc 2460
 atgcacctgg ccggcacttc ccagcctgaa gaaagcatct cctactttga tgaatcctg 2520
 gaccgctcgg aacctgacc ggtgcgtaag aaggcccga tcaacggcat gtccaagtac 2580
 cgcaagaatg cggctctcgg gaaagccgta gctctggggc gcagcaagga taacccaag 2640
 gtggacaccg ccatcaagat gatgaggat gaactgagca aggaagaatc cagctccaac 2700
 ccggaccgca agccatgga agacgccag tacaatctgg tcaagttcac ttccgccgc 2760
 caggactggc cggccgtcat tgccgctgcc gacaagtacc gcgaaaaca gacctataag 2820

aagaatctgc cggaagtcct ctatctgcag ggtgaagcct acctgaagca gaatgagctg 2880
gacaaggcgt tgattaactt catgaacatc acgggtacgt acaaggggct cgtgaagtgg 2940
tccgcccccg ccgtgctggc gcagatggat acgctgtgga agaggaatac gatgtcccag 3000
ggtgcgggca agcagccttc cgacaggtac gttgcctgga aggccggcag ccagtacgtg 3060
cagttgctgg atactcccgc caaccgcaag aagatgacgg cggaggacag tgccctggtc 3120
aatgaggtga aggataagac ggccaagttc gtttccgatc ctgccgtcag ccaggaacgg 3180
gcgacattg ccgcctatga agcagccgta cgcgccgcca agggccagaa ataa 3234

<210> 17

<211> 1659

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 17

atggacacca acctcacaact ggaacttttc atcggccggg gaatgattga caaatccctg 60
gcaaaggaca tcaaggagga aatgatcgcc tccggcaagg agctgccgga agtgcttgca 120
gacttcggca tcatcggcag caaggatgat atctggcaga tgattgccag cgacctgggt 180
acggaattca ttacactgga caacttcag ccgatccga acgtgcagaa catgatgccg 240
gccacgctcg tgcgectgca cggggcgcctc cctgtgcggc atggtccgga aggcctgtac 300
gtctgcctgg tggatcccct gaatccccag acggtggaag acctgcgctt cgccctcggc 360
caggacatcc atgttctggt agcgcgggat taccagattt ccgaacgcat caatgagctt 420
tatggaggcg aatccgccgc catgtccgac ctgatgcagg agctgaacaa catgcaggtc 480
aacaatgaga cggaggactc cgccgccgct cccgtcatcc gctttgtgga cctcgtcatt 540
acgcaggcca tcaaggaaaa ggcctccgac attcacttcg aaccttttga gaaggaattc 600
aaaatccgct accgtgtgga cggcgccttg tatgaaatgc agcctcccc cgtccacctg 660
tccgtgccgg tcatttcccg cgtcaaagtc atggcgaaca tgaacatcgc ggaacgccgc 720
attccgcagg acggacgcat cgtcaagcag ataggaaacc gttccgtgga catgcgcggt 780
tcctcccttc cactcagta cggagaatcc gtggtgctcc gcgttctgga ccgctcttcc 840
gtcaacttga acatggacaa cctggggctt cccgcgcata tccacgaata tattctggat 900
acggtccaca agcccaacgg cattttcatc gttaccggcc ccaccggcgc cggcaagaca 960
actacgctgt atgccgcct gcgtgaaatc aataccattg attccaaggt gctgacggcg 1020
gaagaccctg ttgaatacga tattgacggc atcatccaga ttctatcaa tgaagccatc 1080
ggcctggact tccaatggt gctccgcgcc ttctgcgac aggaccgga ccgtattctg 1140
gtgggggaaa tgcgagacat ggcaacagcg cagatcgcca tccaggcatc cctgacgggt 1200
cacctggttc tctccaccct gcacacgaac gactccgccg gagccattac gcgactgggtg 1260
gacatgggat gcgaaccttt cctggtggcg gcttcctgg aagggtgct tgcacagcgc 1320
ctggtgcgca ccatctgtcc ggactgccgc acgccgatg aacctcacc caccatctc 1380
tcccagcttg gcgtctctcc ctatgaactg ggagacaagc actttttcac gggccgaggc 1440
tgtgataaat gctccaattc cggctacagg ggccgcaagg ggatttatga gctcctggat 1500
attaacgata ccctgcgca catgattacg gatcgcgctc cttccgtggt gctgaagcag 1560
aaagccattg aaatgggcat gtccacgctg cgggaagacg ggctgagaaa tatttatgac 1620

ggcaacacca ccattgaaga agtgctgaaa tataacttaa 1659
 <210> 18
 <211> 1269
 <212> DNA
 <213> 嗜粘蛋白阿克曼菌
 <400> 18
 atgcctaaat atcaatacac agcacttgac cataaaggcg accagaaaac aggtaccctg 60
 gaggccaatt ccgaagcggg ggccatggaa tccatccggg cgcattggcct gtaccccacc 120
 cagatcgtag aagcgggcaa gggcaagatt cagcagacgc ctgccgcaa gaaaaaggcc 180
 aagggagcca agaagcaaaa aggcaagctg ggaggcaaaa tcaaggcca ggctctgatg 240
 attttcaccc gccagcttgc tacgctgatt gacgcggggc ttcccctgct ccagagtttg 300
 aacgtgctgg ccaaacagga ggcaaaccac aacctgcgcg taaccattga ggctcttgga 360
 gattccgttc agggcggtc caccttctcg gaagccctgg cccaacacc cagaatTTTT 420
 gaccgcctgt ttgtcaacat ggtaaaggcc ggggaactgg gcggtgtgct ggaagtcgtg 480
 ctgaaccgtc tggcggaata ccagaaaag gcccaaaagc tgaagcaaa ggtgatctcc 540
 gccatgggtg atccctccat cgtcctgttt atgccgtag gcatcgtgat cttcctgatg 600
 ctgggtcatc tgcccaaatt caagcgatg ttgcgagaac agaaccagga acttcccggg 660
 atttccgagt ttgtgttcgg catcagcgc tggttcatgg ccgccccctt ctttgtgccc 720
 aatgccgtca ttctggccgc ggtagtcgcc atcctgtacg ctgttttccac ggccatgagc 780
 aagacgcca acggacgcc caagattgac tccgctctgc tgaccatgcc ggtcatcggc 840
 aatgtgcaga gcaaaagcgc catcgcccgc ttgcccga ccttcggtac gctggtgact 900
 tccggcgtcc ccacctcca ggcgcttacc atcacgaagg ataccgccgg caacatgatc 960
 gtgggagacg ccatcggcct catccatgac tccgtcaagg aaggcgaatc cgtagttacg 1020
 cccatgtcct cctccaagct tttcccgcc atggtaatct ccatggtgga cgtgggggaa 1080
 gaaaccggcc agttgccgga catgctcctg aaaatcgccg acgtgtatga tgatgaagtg 1140
 gacaatgccg tgggagctat gacctccatg ctggaacca tcatgatcgt attcctggcc 1200
 gtggctcgtg gcggcatcgt gttcgccatg ttcttcccc tctgcaggt tattgaaaag 1260
 atgggataa 1269
 <210> 19
 <211> 717
 <212> DNA
 <213> 嗜粘蛋白阿克曼菌
 <400> 19
 atgaaatcca tccttaacac taccacggcc atgctggctg cgggtctttt cgtccctgcg 60
 gcatcggcgc agaccaccag caatcccaga atgcaggtgc gggctctcct ggaaaagctg 120
 tccctgtata tgcgccagtc cccaacgctc ctgacgcagg acgatccccg gccgctgccg 180
 aaaccgaaga aatgggcgga ttttgaaatt cccttcaagg tggaaagcgc tcccacccc 240
 aaatccggct atattgatgc cctgacgttc aaattctaca tcgcggtagt caatccggac 300
 cgctcccgcc agtatctgaa actgtataag gaagtcaaat acgtcaatgt tccggtagga 360

gaaaacacgt acgcttccgt gtatctctcc ccgtcctccg tcaagcgcac taccggtgtg 420
 gaaggaggaa gaggaaaatg ggtgaagtac cagggcgtag tgggtgaata caacggcaag 480
 attgtcgcca cttattcctc cgaacgcggc aaaatggaaa aatggtggac catccagtcc 540
 cccagcatcg tggagacctc ttattacccc ctgctgaaca aggatgaaac tcctttctcc 600
 gtgttctggt acgaccgtta tccggaaatt atgaggccca acagccagca ggcggcttcc 660
 agttccgtcc ccgccccgtt cgttactcct gtggaacctc cggcggacgg cgaataa 717

<210> 20

<211> 984

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 20

atggacaccc gagaattcaa cgaaattatc gccgcgaact catcgtggat ttctgtctctc 60
 agaacggaag tcggcaaggt ggtcatcggc cagcaggcgc tcgtggacag attaatectc 120
 agtctcctct gcaagggccca cgtcctgctg gaaggcgtgc ccggccttgc caagacgctc 180
 tccgtaaaaag ccatggcggg cacgctgcat gcacagtttg cccgcatcca gtttacgccg 240
 gatcttcttc cggcggattt gctgggcaca atgatctata atccggaaga aaggcagttc 300
 acagccaaaa aaggcccgat cttcgccaat ctcatcttgg cggatgaaat caaccgcgcc 360
 ccggccaaaag tgcaatccgc cctgctggaa gccatgcagg aacgccaggt aaccctaggt 420
 gaaaccacct accgctgcc ggacccttc ctggtgcttg ccacgcagaa cccgattgac 480
 caggagggca cttaccagct cccggaagcc cagcttgacc gttttctctt caaggtgctg 540
 gtcacctacc ccacgcgca agaagaactc caggtgctgg acctcatggc cagctccgcc 600
 aaaccgccgg aaacctcccc ggtcaccacg ccggaacagg tggcggcctc ccgcgacctg 660
 gtaaaccaaga tttatattga cgacgccgtg cgcggctaca tcgtggatct ggtgcgcgcc 720
 acccgcttcc cggaaacggt ggacgtgaag ttgcgcggtc tcacccgcgc gggggcatct 780
 ccccgcgcta ccatcaacct ggctctggcg gcccgccca atgccttcat gcaccatcgt 840
 tccttcgtca ctccacagga tatcaaggac ctggcccacg atatcctgcg ccaccgcatc 900
 ctgctctctt atgaggctga agcggaaaac atttccacgg acgacgtcat cgaccacatc 960
 ctgacgaaaag tccccgtgcc gtga 984

<210> 21

<211> 462

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 21

atgttcaaca tcgtgagatt caccagcgt acctgtccgg cattggcct caccgtggcc 60
 cttacttcgt gcgacagcag tacgaatgaa gccctgacct ctttctgac ggggaattca 120
 tcccaggaac accagcagct ccaggcccag ctccagcaaa tgaaaaacgc actggcccag 180
 acggaacagg aaataagcca ggcggaatcc cacgatgccc gcgttaatta caatcttcag 240
 aaaaggcttt ccaaccggg aagaatcacg acgcccttca cggatgaagga tatagatgtc 300
 ctgccttcca aacgccgca cttcgagcac ctgtgcttgg acattgaaga catgcgcaaa 360

acgctggcgc agcgcaagca ggaattccat gccctgcaat atcaatataa cgcgtatgcg 420
gccaaactgg ctgaattcaa acaaaccac ccgtagact aa 462

<210> 22

<211> 1383

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 22

atgattgaaa cgattacaga agaacagttg actccccagc aggccgaatt ttgggtgcbc 60
gcccgccagg cggtagacat gaacaattat ccctatgccg tcagcctgct caaggccctg 120
gtaaagcagc tccccggttt tctggaaggc cgcaaggcgt tgcgcgcctg tgaaatcaaa 180
ttgaatccgg aggccaagag aggggggctg ttcagcggta tgaaaatcag caccagcaag 240
ctcacttctt ccaagaagga cgcggctacc cagctttccg ctctggaaga cgaattggaa 300
aatgatcctt acagcattcc ggtaaacgag gccctgtaca cggctgccat ggaagtaaat 360
ttcccggatc tggccgcttt tgctctggag accgttcgcc aggggcatcc cggcaacaag 420
aaaatgctcc acatgctggc ctcccattac gtttcccggg atatgccggc ccaggctgcb 480
gaagtgtacc atgacctgt gaagctggat cccacggaca gtgtggccgt aaagagcgaa 540
aaggactgca tggcgcgcgc cacgatgcag cagcagaagt gggaggaggc taaaagcttc 600
cgggacgtga tgaagaactc gtcggaaacg aacaccctgg acaagagcga caagaaaggg 660
ctcaccctg cggaaactgga agagcgcctg gggcttctct ccgccctta cgcaccagaac 720
cagcaggatc tggccgtcgt gcgcgacatt gccggcgttt atgaacaaat ggaagattgg 780
gccaatgcct attccttcta taattacgcg ttcagcctca gcaacaatga tatttccctg 840
gaaaacaagg cctcggaaat gaatgagcga tgccgcaagg cccaggtgga ggaaatccgc 900
cgccgcgctg ccgcggagcc ggataataag gaattcagg aacagcttgc ccagttcagc 960
aaggaagctg cggagcagca ggtggccttg tgccgccagc gtgtggaaaa caaccaccag 1020
gaccgcgaaa cccgttttga gctgggcccag gccctcttcg actgcggcaa ttacacggaa 1080
gccattccgg aactccagcg cgcggcaac aatccccata tccgcatccg cgccatgctg 1140
ttgctcggca agtgctatga cgccaagaac atgcatgata tggctctgcb ccagctggag 1200
gaagccaata aggaattgat agaaatgaat gacaccaaga aggaaatcct ttacatgatc 1260
ggcttgcttt gtgaaaagca gggcaagaag ggggaatccc tggctgcatt ccagcagatt 1320
tacgacccg agtacggcta ccgcgacgta gccaggcgcg tggaatcctc ttacggcaat 1380
tag 1383

<210> 23

<211> 468

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 23

atggaaaata catatcgtca tgcccagctt ccggaaggc gcgttcccgc cctgcgcgtg 60
gaaccaatgc ctgcggatac caatcagagc ggggaagtat tcggcggctg ggtgatgagc 120
cagggtggacc ttgcaggagc caataccgcc atgcgctatg cattgagccg ctatattgtg 180

acgcgtgcgg tgagcagcct gacgtttgaa gctcctgtgc tggtagggcga tgtagtgtcc 240
 ttttatacgg atattatcaa ggtgggcccgc acctccgtca ccgtgaaggt ggaggtgtat 300
 gcggaacgtc tgacgaagct ttgcaataac attgccaaaa ttacagaggc ggagctggtt 360
 tatgtagccc tgggggagga taagaaaccg attaccctgg aagagtcccc cgccccgttt 420
 gcgcagtgct gttctcttga gacgggagat tcctcttctt gttcctga 468

<210> 24

<211> 1413

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 24

atggggaaaa cgcttttcca aaaaatctgg gacgctcata ccgtcggcat cctgccggat 60
 gggagaacgc aaatgttcat cgtacgcac ctgctgatg aagtcacctc tccgcaggct 120
 ttcggaatgg tccgggacct gggcctgact gtgcgccacc cggaacgcac ctttgccact 180
 gtggaccaca tcattcccac agacaaccag gcggaaccgt tcgcggacgc cacggctgac 240
 gccatgatca gggaactgcg ccggaactgc gctgaaaacg gcatccgctt tttcgacctc 300
 cctaccgggc tccaggcat cgtgcatatg gtagggccgg aactcggcat cactcagccg 360
 ggcatgacta tcgtatgcgg agactcccat acggccacc acggagcctt cggtgccatt 420
 gccatgggca tcggcaccac gcaggtgcmc gatgtgctgg ctacgcagac cctggccctc 480
 agcccgtca aggtgcgcc catcaatgtg aacggaaagc tggcccccg cgtgcgcgcc 540
 aaggatgtag ccctgcacat catcggcctt ctgggagcca agggcggcct gggcttcgcc 600
 tacgaatacg gaggcgaggt cattgacgcc atgagcatgg acgaacgat gaccctctgc 660
 aacatgtcca ttgaaggcmc ggcgcgctgc gttacgtga accctgaccg gaccacggtg 720
 gaatacatca aaggacgcct gttcgcccc accggcgcgg actgggacaa ggccgtggaa 780
 cgctggctgg gctttgctc cgacgcagat gcggaatatg atgaaatcgt ggaaattgac 840
 ggagcttcca ttgagcctac attgacatgg ggcatttctc cggaccagaa tacgggcatc 900
 agcggcagca ctccaacc atccgacgca gcggacgacg atgaacggaa gatgatcaat 960
 gaagcgcctgg aatacatgaa attccccgcg gacatgcctc ttaaggggct gccggttcaa 1020
 gtgtgcttcg taggttcctg caccaatggg cgcatttcag acttccggga agtggccgcc 1080
 ctcatcaagg gtcgccatgt ggccccggc atcagggcmc tggccgttcc cggctcccag 1140
 atgactgccc ggcagtgtga agaggaaggc atcgcggaca ttttccgtga agccggcttt 1200
 gaatggcgtc tggcgggttg ctccatgtgc ctggccatga atccggacaa gctccagggt 1260
 gaccagctct gcgccagttc ctccaaccg aacttcaagg gccggcaggg aagccccacc 1320
 ggacgcacc tgctgatgag cccggccatg gtggccgcc ctgctctgac cgggaaagtc 1380
 tccgatgcc gcgaagtgtt ctccctgaat taa 1413

<210> 25

<211> 1785

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 25

ttatttgta aagttcacgg gaatgggctg ttttaacgga agcaccagct tgaagggtac 60
 aaaggcccct gccgccgct ccacctggc gtccttgct cccagttcca tgatctggcg 120
 ggcttccagt ttgacgtctc cgggcttgaa agtgaacagg gattccttgt tcccgtctat 180
 ttttgccctgg aggtcctgga tgattctctg gccgcccagg ctgcgccgga cgaatccggt 240
 caggcggatg gcgttgacgc tgtaaacgcc cgcttcatcc tcgctggatg cgttggcgga 300
 ggctccgctc ctgatgtcat ccaccaggga tgtattttt tccgatgtga aggaatcctt 360
 gatgacggaa tatcccgtaa tttgggtggt atcctccgga ttgaagtggg ccagcggttc 420
 aaaatccgta aaccagtagg gataatcctt gtgttccgac tgttccagca ggtgcctgat 480
 gatgtccgcg tagccgtagc gctgaagcgt gagctgctgg taggaagcca ggttgagtc 540
 cagttttttc agctcctggt ctttctggcg caggcggat tgtgccgatt tgatggaagt 600
 aacggtgggc tggacgccg cgaggatttc ctccgcttt ttctcgcca tatatcctgt 660
 gacggcataa gctgcggcac caagaacggc aatggctgcc ccggcgatga tggcgggcat 720
 ttttttctgg ttggcccgt ttttggcaac tgcggtgggt tccaggtcaa tattgagga 780
 ggccctgccg atggagtga tggcgggtgcc gatcaatccg cccaggatga aggcttcgcg 840
 ggagatggtg ttcacgtcca cgccggagcc cacgccacg ttgtgcatgg gtttgaagaa 900
 ggagatcgga atgcccagtt tatcttccag gaattccttg gtatagggca gggaagctcc 960
 gccccgcac aggtatgctt tgacgggagc gcttccgctc atctgggccc ggtaatggtt 1020
 ggtggtccgc tggatttctg aggcaagcct ggtcatggcc gtacggatga cggtagccag 1080
 attggccgtg gcgggatcca gcccttccgt ttgcccgttg ctcatggaaa cgagcccgtc 1140
 ggtggttttc aagcgttccg cttccaggaa gggaatattg aattcacggg cgatagcgga 1200
 ggttacgaag attcccccg cggaatgct gcgggtgaag aaacgtccct gttcgctgta 1260
 aatcaaatcc gtggatttgg cgccgatgtc gatgagcatg accggttctt tctcatccgg 1320
 ataactgtcc acatacgcac tgtacagaga ggtaagcgcg cagtccactt tgccggtgga 1380
 aaggccgtgg gagacgattt catcattcag ggagtccagg tcttccgctt tgatggcaac 1440
 caggatggct tcccgttcca gaccttggc gggaagcaga tggtagtccc acacgacttc 1500
 gtccagcggg aaggggacgt gctgctgggc ttcaaagcgg atgagctggt ccacatcggt 1560
 atcgtccaga gccggaagct tgacgaagcg gatgaaaacg gattgtccgg aaacggaata 1620
 gttgacgacg cttcctttga cgttgagttc ctggacgagg tcggcgatgg cttcccctat 1680
 tttcgtcagg cgaaaacctt ctgctgacgg gtccagcact acgaggcgcg tagcatagcg 1740
 gtccaggata agggcgtctt tggaagtctt ggaaaagacg cccat 1785

<210> 26

<211> 2961

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 26

atgttcacca atattacag cacgaccctc tgcattactg cgttcagcat cgccagcctc 60
 atggcggcgc ctctgaatgc aaccaaaacg gagagcctgg attggaactg gaaattcgcc 120
 cgtttcggga aaatgccgga tggcagtagc caaccggaac cgggaaaagc catgggattc 180
 gccactgcca ccagtgaaga atccggcaat ccggcggaca atgccgtgga cggggacaag 240

tccacccgct ggtgtgccgc cagtggcaaa agcggagaaa aatcacctgt ggacatggga 300
cgccccgtag atgtaaaaac cgtaacatc ctgtgggaaa aaaaagcaa ccatcttttc 360
aagctggaag gctccggtga cggaaaacgc tgggcaacta ttgaagacaa aacttccggg 420
caaaacgact ccaaggaaga cacggtagaa aaaaaaccg gcaaaccgcg atacttccgc 480
atcacctgca cgggcaacaa ccagagcaac tgggccagca tccgtgaaat cacctttaa 540
aacgacaagg gggaaattat ccgccctcag gccgccgccg gaaccagtaa ggcggacaat 600
ccctccagcc cctctttcaa cgacaaaaac tggcgttcct tgaacctgcc gcacgactgg 660
ggcgtggaag gacccttccg gatggaaatt gaaaacagaa ccgaaaact cccctgggtc 720
ggcattggct ggtaccgcaa aacgctggaa atcccggcgg acccaaggg caaccaattc 780
tatctggact ttgacggcgt tatgtcccgc cccaaaattt atgtgaacgg acacctggcc 840
ggcgaatgga aatacggta cagctcttc cgcgtggaca tcacgcctt cctgaaattc 900
gggcagcaaa ataccattgc cgtcagagtg gacaateccc ccagcacctc ccgatggtat 960
ccggcgggcg gcatctaccg ccatgtgtgg ctacggaat ccaacctgt gcacatcgaa 1020
cactggggcg tttctgtaa aactccggaa ataccaaact ccgccgcaa ggtagaagtg 1080
gacaccacgg tgaaaaacac cacggacaaa gccgtcatc cactgttac tgaagaaatc 1140
ctggacggag gtaaaatcgt agcctccaca accaccaag gggaagaaat tccgccggg 1200
gaaaagggca aaatcaccag tacgtgacg ctcaaaaacc cactctgtg gacgctaaac 1260
gctccccatc tgtataagat gaaaaccacg gtcaggatgg gagacaaagt catagacaa 1320
aaattcacca acttccggcgt aagaaccgtt gaatggaaac ccacgggatt ctacctaac 1380
ggggagcgcg tgcagctcaa gggcgtttgc cagcaccatg acctgggacc gctcggctcc 1440
gccgccaca cgcgaggcta tgaacgccag attgaaatcc tgaaggaatt cggcgtcaac 1500
tccatccgca cgtcccacaa cccgcctgcg ccggaagtgc tggacctgtg cgataaaatg 1560
ggcatcctgg tcattgacga acttttcgac gtatggcaat gctccaaaga aggcgtcaac 1620
aacgaatcct ttaacgaatg gcatgaacgg gacgtggta acctctgcca ccgggaccga 1680
aaccaccctt gtgtcattgc atggagtctg ggaaatgaag ttccggaaca gggaatgaaa 1740
aatctgcacc atatctcca aacctgacg gatcttttc accgggaaga cccacgcgt 1800
aaagtgactt ccggctgcaa caacgccaat gccgcacgca acggctttgg ggacaccctg 1860
gatgtttacg gctataacta caagccctgg gcctacaagg acttcgcaa ggaccgccc 1920
caccagccgt tctatggtgc ggaaccgcc tctgtgtca gctcccggg agaatacttc 1980
ttccccgtgg actggaacaa aggcaaggga ttctacctt accaggtcag ttctatgac 2040
ctgtacgcc ccggctgggc caaccgtccg gatgtggaat tcgccgctca ggaagacaat 2100
cccaacagcg cgggagaata tgtatggacg ggctttgact acattgggga accaccccc 2160
tacaatctgg acgccacaa cgccctgaac gtgccggaag ggccggaac cgaaaagctg 2220
atggcggaac tcaaaaaact gggagaccgc gccccctccc gcagctcta ctteggcatc 2280
gtggacctgt gcggcttcaa aaaggaccgc ttctacatct accaggccca ctggaggccg 2340
gatctcaaga tggcgacat cctgccgcac tggaactggc cggaacgcaa ggggcaggta 2400
acgcccgtgc atgtctacac cagcgggat gaagcggac tcttctgaa tgggaaatcc 2460
cagggcgtcc gcaaaaaggg caccgggaa aaggaccgt accgcctcgt gtgggaagac 2520
gttaaataca cgcccggcac cctcaaagta gtcgcaaaa aggacggtaa aatctgggct 2580

acggacacgg taaccactac cggaaaacct gcggcgctca ccctcaagcc ggaccgcaat 2640
 gaaatcaagg gagacggcta tgacctgtct tatgtcaccg tagccgtccg cgacgcccag 2700
 ggccgtatgg tgccccgaag caaaaaccag ctcacctca aggtaagcgg ccccgcgac 2760
 atcgccggca tctgcaacgg tgatcccacg gacttcacca ccatggcgaa tccgaaaaac 2820
 aagaaaatca tgaaaatcaa ggccttcaat ggtcttgccc aggtcattct gcgctcccgc 2880
 aagggagaat cgggaaaagt gacgtccaa gtcatctcca acggactcaa gccggctcag 2940
 acaactgtga cggtcaaata a 2961

<210> 27

<211> 1161

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 27

atgaatgaga aatcgttgat tccgtctatc cgctttgccg gatttactga cgcatgggaa 60
 cggcgtaagc tgggggattt agcggagttt agaagagggc taacctattc accaagagat 120
 atatcaacat ctggaatcag ggtattgcgc tcgtcaaata tagatgagga ttctttcgtt 180
 ttagcagagg atgatgttta tgtaaaagag acggctgtgt gcatcccgct tgttgaaaaa 240
 ggcgacattt taattaccgc agctaattggc tcaagcagat tagtcggaaa gcatgctttg 300
 attattgacg ataagggtaa aatggtacac ggcgggttca tgctgctcgc gcatccgtat 360
 acgcattctg ctttcgtaa tgctcttatg catgcaccct ggtactcatc gtttatccgc 420
 actaacgttg ctggaggaaa tggagctata ggaaatctga ataaaagcga tttggaagaa 480
 caagatattg cggcgacctc tgagcaagag caagaaagaa tcggttcctt gtttgccctc 540
 ctcgaccatc tcatcaccct tcatcagcgt aagtatgaaa agctccttaa catcaaaaaa 600
 tcgatgttgg acaaaaatgtt cccgaaaaat ggtgagcttt tccccgaagt tcgctttgcc 660
 ggatttactg acgcatggga acggcagaag ctgggggatt tggtagagtc tgttccgttt 720
 aagcagtata tagcatcacc tgaacctgac ggaaaattcg aaattatcca acaaggaagt 780
 gagcctatta ttggatatgg aaacggaatc ctttgtgaag attatgcaaa gataacgatt 840
 ttcggagacc atacagtttc aatctacaaa ccacaaaagc cttttttgt agccactgat 900
 ggcacaagac tccttacagc aagagttcta gatggagatt ttttttattt cctcttggag 960
 cgatacaaac caatccctga aggatataag cggcattaca cgatattgat tgaaaggtat 1020
 ggatgttttc ctcccacgc agagcaaaag ttaattgcc aatttttttag gaacatcgac 1080
 cacctcatca cccttcatca gcgtaagttg gaaaaactgc aaaacatcaa gaaagcctgt 1140
 ctggaaaaaa tgtttgttta a 1161

<210> 28

<211> 564

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 28

gtgaaaggat ttttttgccc gttttcaacg gttttatgga aggaacatgg ctggaatgc 60
 ggaaaagggt atgttaatga acaggcatg gaaagattgt atcgtccgaa tgttgcgggg 120

atgatggtcc ggcaggacgg gaaattgttg atttgcgagc gttccgggca gaaaggagcc 180
 tggcagtttc cccagggcgg aattgaccgc ggggaaacgg ctttgaagc cgtgcggcgc 240
 gagattgggg aggaagtggg gtttttggc tcccagtata atattgtgga atcccgaag 300
 gggtatcgtt acgattatcc gccggaggtg ctggagtatg ttcgtgaaaa gcggcggcag 360
 ccttttgttg ggcaggcgcg ggagtatttc ctgtgctggc tgcattgcgga cgctccggaa 420
 cccgtcctgg atgaccggga gttttgcgat tacaagtgga tagccccagc cgaatttaag 480
 ctggagtggc tgccggagtt taaaaagaaa gtttacgcca gggttctgga agatttcttt 540
 aatgtccggg cgcgggataa gtaa 564

<210> 29

<211> 1422

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 29

atgtctatTT tctcatcacg cagacaatTT ctcaaTctt tggggcttgc ggccggagcg 60
 gctgccgccg gaaatgcctt ccttgggaag gctgtgaaa tccctgccgg agaccatctc 120
 tggaaatccg cctctccggc ggtccgagg ctttccggtt ccacatacat gggagggttc 180
 aaggctcccc ggctgggtcg catcaggctg gccttcatcg gcgtgggagg gcgcgggttc 240
 tcccacctgg cgcaaatgtg cgtgatggat ggagtggaaa tcgtgggcat atgtgatttg 300
 aaggaagagt tgacgaaacg cggcgtggat cgcgtgctct ccagaatggg gaaaagcctt 360
 ttgggctatt ccggcggcga tatggaatac ctgaccatgc tgaaggagct gaagccggat 420
 gccgtcatca tcagtacgga ttggagtctg catgccagaa tcgcctgca cagcatgaag 480
 cacggcgcctc acgcctttgt ggaagttcct ctggccgtct ctctggagga gctctggagc 540
 ctggtggata ccagcagagg caccaggaaa cattgcatga tgatggaaaa cgtcaactat 600
 gggcgggatg aactcatgtt cctgaacatg gtccggcagg gcgtcatcgg cgatttgctt 660
 cacggggagg ccgcgtatat ccattgcctg gtgacgcagc tgggggacac gcgcggggaa 720
 ggggcctggc ggccggaata tcataccaga atcaatggca acctgtacc caccacggg 780
 ttggggccgg tggctcaata tatgaatttg gagcgtggag aggaccgttt ctgccgtgtg 840
 gcggcgttct cttctcctgc tctcgggcgc aatgcctacg ctaaaaagca tcttcccgc 900
 gatcaccgct ggaacaatac tccattcatc tgcggtgaca tgaatacggc tgttgtcaag 960
 acgcagctgg ggccgaccat tcttgtccag ctggatgaga cgtccccccg gccttactcc 1020
 cgcgccaacc tgatccaggg aacggagggc acgctggctg gtttccaac ccgcgtggcg 1080
 ggtgaaaagc tgggcaacgg caattatcat gaatggattg aaggcaggga aaaactggcc 1140
 gctatTTatg aaaaatacga tcatccctc tggaaacgca tcggggagct ggccacgaaa 1200
 atgggcggtc acggcggtat ggactttgtg atgcttccc gcacgtgga atgcctccgg 1260
 aacggagAAC caatggatca gaacgtttac gaaggagctt cctggtcttc cctgctgccg 1320
 ttgacagccc gtccatcgc ccaggcggg atgcctgtgg aatttccgga ttttaccgcg 1380
 ggagactgga aaaccacat gccgtggcc gtggtttcat ga 1422

<210> 30

<211> 816

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 30

```

atgaaaactg tcttagtagt tttattgatt cttgcagcag gggcgggcgc ctggttctcc 60
ggctcttagcg gccttttcgg tattaatggc cagtatcagg attttaaaga aatgatttcg 120
tatcgtaaga ctttggacaa ggaaatacgt acttggacaa gcttgcgcaa cgacatgatt 180
aagaatcgtg gcttggcagc ggaagaaaat cttagtctga tttccaacaa ggcttccgtg 240
acgcagcagc gtgatgaaca gctttccaag gaagcggagt tgaaggaaga agaagtgcag 300
ttgaatcggg acttgtccaa aatcaataaa cagattgagg aattaaagag caagttgcaa 360
gatttcgggtg tttccagcgt acaggaaatc caggagaaga tggaatcttt ggaagcttcc 420
aataagaagc tccaggaaga tattgaccag attaaaagtg ctacggaagt ggcttccaag 480
agacgggcag aacaagcttc tgagctggct agccgccaga aggagcaagc tgaataccga 540
gctgctcttg ccaaaaaatgg ggaagagtat cccgttctat ccgtggatcc gcagtggggt 600
tttgttgtga ttggggccgg acagggcagt agtattgatc caatacggg tcttcttgtt 660
accctgaag gtcgcagcat tggtaaatta aagtaactt ccctggagaa aatcagacg 720
gtagctgaca ttattaaaga cagcgtaccg tctggtatga gtattcaacc cggcgataga 780
gtacaactcc tgcgtccccg tcagtccgcc aaataa 816

```

<210> 31

<211> 429

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 31

```

atgctggact tgagcgttc tctttccacg gaagatgggc tagggccgtg gaatattatc 60
gtcaaattga cgggcaatgg ttcggacctt cccaggtaa gcattaatgc ggcaagcagc 120
aatgaaagtg ctccatgaa cattgcttcc gtagtgtacc gcaggacggg atcatccgct 180
attctgaggg ggaacttcac gattacttcc gggcagtgga cggctccggg cccgattgtc 240
gtgacaaaca gggacaaggc ctttatagat gctaataatt cttcagttc ctccaatgaa 300
cgtgagagct gcggcgggac gttcaccggt tccatcactt accaggttcc cgttgagaat 360
gatgaaggcg aggttgaagc gcaggactgg accgctacgg aaggaacggt gagttacacg 420
gtatcctga 429

```

<210> 32

<211> 1446

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 32

```

atggatagca ttctttccgt cettgccact atcgccatta ttttcggcgt ggtgatgttg 60
tttaacttca tgatttttat tcatgaactt ggtcattttt tcgctgcccg ctggcgtggt 120
ctgtatgtgg acagatttca aatctggttt ggccgtccca tctggaaaaa aacggttaac 180
ggcgtgcagt gggggctggg gtggattccg gccggaggtt ttgtatccct gccgcagatg 240

```


gctcctatgg aggccattga aggacgtgcg gagcttccca aggatttgaa gccggttact 300
 cccttggaca agattatcgt ggccgccgct gggcctgccg cttcttttct gctggctgtg 360
 ttgtttgccg tggccgtctg gatggtgggc aagccgatg tggagatggg cgtgactacg 420
 gtcggttttg ttgctccgga cagccctgcg gctcaggccg gcattcttcc cggcgacaag 480
 attgtgaaag tggacggcca tcctgtggac aagtgggagg gcaatatgga aggcgtgcbg 540
 gaattgatca tgctgggcga gcatgaccgg gtggttttta cgggtgcagag acctggacat 600
 gaaggagaga tggaaaattc ctgcbgattc cggattccgg aaacgtcctg gtggcagcbg 660
 tccggcatgc gtcagggtggg gttgatgcag gccatgccct gcgtgattgg ggaagtgatt 720
 cccaattctc ctgccgcact ggccggattg aaccggggcg ataaggttgt gggtgccaat 780
 ggagaacgcc tctggaacct tgccgcactg gatgttctgc tgaagaagaa tgaaccgctc 840
 ttgctggatg tgacggacag ggccggggtt gcaaggcagg tgaatatcca ggggaagctt 900
 ccggagaatt ggcacaatgg tgcggacggg tcctgctca agggggccca gcctattctg 960
 ggcgtgagct gggacctgag ttccgtgggc cgagacgta ccgtccatcc ttctccgtgg 1020
 gcgcagatca agcagagtct gaaatggatg ggggataccc tggcgaaggt ggtggctccc 1080
 ggcagcagcg tgggcbtggg gcatctttcc ggacctgtgg gaattgcca tcagttttac 1140
 aagatgttct ctctggagga aggggtggaag ctggccctgt ggttttccgt ggtgttgaac 1200
 gtgaacctgg cggttctgaa tattctgcct ctcccgtag tggatggcgg ccatgtggtc 1260
 atgaatgcca ttgaattggt tttccggcgt ccctgaatg taaaagttct ggaattcgtc 1320
 cagttcggct ttgtgttct gctgatgggg ttcttctgt ttgtgacatt caaggatgtg 1380
 ggggatttct ttggcaagaa gccggacaag ctgcccacc cggtattcaa ggcgctcgcg 1440
 gattag 1446
 <210> 33
 <211> 927
 <212> DNA
 <213> 嗜粘蛋白阿克曼菌
 <400> 33
 atgaagattc tcgtaaccgg cggcgcggga ttcatcggtt cccacattgt ggaacactat 60
 caggataagg cggaggaaat ccgtgtgctg gacaacctgc gcacgggcta tctcaagaac 120
 ctggaagggc tcaggcacac gttcatcgaa gtttccatct gcgaccggga gctggtgcbg 180
 caggcgggtc agggagtgga ctatattttc cacatggccg cgctcgtctc cgtgccggaa 240
 tccatgagca agatcagcga atgcatcgac atcaacgtea acggtttgct gaacgtgctg 300
 gaggaagctt ccgccgccgg agtcaaaaaa atcgtgctgg cgtcttccgc cgccatttac 360
 ggagacaatc ccacggtgcc caaactggaa acctgtacc cggaaaccaa gagtcctat 420
 gccattacca agctggatgg ggaatactac ctcaacatgt tccgggcgga aggaaaaatt 480
 aatacggcag ccgtgcgctt cttcaatgtc ttcgcccc ggcbgacc caagggcgcg 540
 tatgccgcbg ccgtgcccc tttcattgaa aaagctgtca aaggagaaga catcacctg 600
 tatggggacg gctcccagac gcgcbgattc atttatgtga aagacattgt aggagccctc 660
 acctttgtgg cbgaaacacc ggaagtcacc ggcgtgttca atgccggtta cggcggccag 720
 atcaccattg aagagctggc gcagaacatc atcaaggctg ccgggtcttc ctccaaggtg 780

cttcatgccc cggaacgtcc gggagacgtc aagcattccc gcgcctgtgc ggacaagctc 840
 cgcaatgccg gatggcagcc caggcatact ttgccggaag gcctggcgac gacgctggaa 900
 tacttcaagg gcattctggg caggtaa 927

<210> 34

<211> 1200

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 34

atgtataccc ccgaattcaa aaacatctc acttccacc tggacggact gcgtgcggaa 60
 ggactttaca aggaagaacg ctttatcgcc tcccagcagt actcccaggt gacgctgaag 120
 gacggacgct ccgtcatcaa catgtgcgcc aataattatc tgggccttgc taataatccg 180
 gaagtgatgg aagccgcaa gaaagccatc gaccagtggg gtttcggcat ggcgtccgtg 240
 cgttttatct gcggcacgca gaccettcac cgtcaattgg aagaacgtct tacccaattt 300
 ctcggcacgg aagacacgat tctgtttccc tctgctttg acgccaacgg cgggctgttt 360
 gaaggcctcc tgactgcaga cgacgtatt atttccgatt ccctgaacca cgcttccatt 420
 attgacggcg tgcgcctctg caaagccaag cgcttccgtt atgccaaca cgacatggca 480
 gacctggaag ccaagctcca ggaagcggac gccgccggag cgcgcgtgaa gttgatttcc 540
 acggacggcg tcttttccat ggacggcatc attgctcagc tggacaagat tcacgagctg 600
 gcagccaagt acaatgccat tgtccacttt gacgactgcc acgccacggg cttcctgggc 660
 gaaaagggcc gcggcacgca tgaataccgc ggctgttcg gccatataga catcaccacc 720
 ggcaccctgg gcaaggcact gggaggcgtc tccggcggt acgtctccgg cccgaaagaa 780
 gtagtggatg tcttgcgcca gaaggcgcgc ccgtacctgt tctccaacag cgtggccccg 840
 gctatcgtag ccgcttccat caaagtactg gacctgttg aacagtccac ggaagcgcgc 900
 gaccgcgtag aagccaatac caagtatttc cgtgacgcga tgacgggagc cggattcacc 960
 atcggcggca aggaccacc catttcccc gtcatgctgg gggatgccgt cctgtcccag 1020
 aaattctccg cccagcttct ggacgaagga gtgtacgcc tcggcttctt ctatcccgtc 1080
 gttcccaagg gacaggccc catccgcacg cagatttccg cagcccatac ccgcaacag 1140
 ctggacaagg cgattgaggc cttctgcaag gtaggtaaaa acctgggcgt tatttctga 1200

<210> 35

<211> 2745

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 35

atgtccacca attcctgcgc gtgtagcgca tctactgaca aattcgtcta ttctttcggc 60
 ggagggtccg ccgacggcaa tggcagcatg aaaaatcttt tgggcggcaa gggcgccaac 120
 cttgcggaaa tgccccgtat cggecttctc gtccctccc gattaccat cactacggaa 180
 gtttgcaact actactacga tcacggetgc acttatccc cccagcttga cgcgcaggtc 240
 aaggaaggca ttgcaaaaat ggaacagatc ctgggacgca agttcggcga tacggaagct 300
 atgcccctgc tgggtggccgt gcgttccggc gccctggaat ccatgcccgg catgatggac 360

acgattttga acctcggcct gaatgaaaa tccgtggaag ccatggtgaa ggctacgaac 420
 aacccccgct tcgcctggga ctgctaccgc cgcttcgtgc agatgtacgg cgacgtggtg 480
 ctgggtgtgc agaaaacccc ggatgaagac cacgaaccct ttgaaaccgc catcgctgcc 540
 atcaagaaaag aacgctttgg cagcgaggac gtggaagaca ccaagctctc tgccgatgac 600
 ctgaaggaac ttgtctcccg cttcaaggcc ctgggtctgg aacgcaccgg ccatgaattc 660
 ccggaatgcc cctgggaaca gcttcaggga gccattggcg ccgtgttcgg ttcttggaa 720
 aatgaccgcg ccatcgtgta ccgccagaaa tacggcattc cgtccgaatg gggcaccgcc 780
 gtcaacgtgc aggccatggt cttcggcaac acgggtgagg aatccggttc cggcgtggcg 840
 ttcaccgcga accccgcctc cggcgaaaa gaattctat gcaattcct gatgaacgcc 900
 cagggtgaag acgtcgtggc cggcgtgcgt acgcccgcc ccgttgctgc cttcatgaa 960
 gtgatccccg ccgccttcaa tgaactggtg cgcattcgcg aagtgtgga aaaccacttc 1020
 catgacatgc aggactttga attcaccatt caggaccgca ccgtctacat gctccagacc 1080
 cgcaacggaa agcgcaccgg cgtggccgct ttccgcattg cctgtgaaat ggtggaacag 1140
 ggccctgattg actggaaaac cgccgtgcgc cgcattcctg cggaccaggt ggaccagctg 1200
 ctgaccccca tctttgaccg tgaagccatc aagagtgcc aagttctgac ccgcggtctt 1260
 cccgccgggc ccggcgccgc caccggacgc atctacctga acgcggaacg ctgtgtggaa 1320
 gccgcggata gaggtgaaaa ggttctgctg gtccgtctgg aaacctctcc ggaagacctg 1380
 cgcggcatga ttgccgctga aggcatcctg accgcccgcg gcggcgtttc ctcccatgcc 1440
 gccctcgttg cccgccagat gggcaaagtc tgcgtttgcg gcgcggatga aatcattgtg 1500
 gactacaaca accgcaccgt ttccgttggc gacgtaacca tcagcgaagg tgactacctc 1560
 tccattgacg gaacgagcgg cctgttatac gccggcaagg tggaaacttc cccctctgaa 1620
 atcatccagg tcttgatttc caagaccatg aagccggaag acagccgcac ctaccagaac 1680
 ttcgccaagc tcatgcagtg gtgcgacgac tgtacaaaa tgaaagtgcg caccaatgcg 1740
 gactctccca agcagacgga aaccgccatc gccttcggcg ccaccggcat cggcctctgc 1800
 cgcacggaac acatgttctt tgaaggggac cggatcgact tcgtccgtga aatgatcctc 1860
 tccaccaaga agagcgaccg cgtagccgcc gttccaagc tccttcccta ccagaagggg 1920
 gacttcaagg gcatcttcaa ggcgtcaag ggctgcccgg gcaccatccg ctttctggac 1980
 ccgcccctgc acgaattcct tccccagacg aaggaacagc agcttgacct ggcccagaaa 2040
 atcggcatgc ctgtggaagt tatcatgcgc cgcgtgtccg aactccatga gttcaaccgg 2100
 atgctcggcc accgcggctg ccgtctcggc atgcctatc cggaaatcac ggaaatgcag 2160
 gcccgcgcca tctttgaagc cgctgtggaa gtctcccagg aagaaggatt tgccgtggtg 2220
 cctgaaatca tggttcctct ggtggccttc aagaaggaac tggacatcca gaaagccatc 2280
 attgacaagg tggcccagca ggtatttgag gaaaaaggcg tcaaagtgga ctacctcgtc 2340
 ggcaccatga ttgaaatccc gcgcgctgcc gtcacggctg acgaaatcgc ggaaaccgcc 2400
 cagttcttct ccttcggcac caatgacctg acccagacgg gcctgggcat gagccgcgac 2460
 gactccggct ccttctgcc gcagtaccag gaactggaat tcatcaagaa gaacgtcttc 2520
 gcttccattg accagaacgg cgtcggcaag ctgatgaaga ttgccgtgga actcggccgc 2580
 tccaccgcc cggacatcaa actgggcac tgcggcgaac acggcggcga ccccgcttc 2640
 gtcaagttct gcaacacgct gggcctgact tatgtgagct gctcgccta ccgcgtccc 2700

accgcccgtc tggcccgcg cccaggctgct ctggaacagg aataa 2745
 <210> 36
 <211> 885
 <212> DNA
 <213> 嗜粘蛋白阿克曼菌
 <400> 36
 atgcgtcttt tatcctccgc cgccgtcatt tgcgcccgc tgttctccgg aaccatcctt 60
 catgctgcagg acccggaact gctggccaag cgccagtgcc gttccgtcca tatcaaccag 120
 caggggcatc cctcccaggc aagcgccctg tacaatgtag tgaaagccaa aacatccgtt 180
 cccggcacct acttttgcgc catgaatfff gacgacggct atatcggttt tcaggaacaa 240
 tccaacggta aaaaagtaat catcttttcc atctgggatc cgggtggcaca cggagacaac 300
 cccaatgatg tgccggaaga agaacgcacc aagctggtaa aactgggcaa agatgcgcgc 360
 tccggacgtt ttggcggtga aggaacaggc ggacaaagct tcgtggacta tccttgggca 420
 atcggggaga acatgcgctt cctcgtctgc gtcaaaaaa tggggaaatt caaggaaatc 480
 agcggttatt actttaataa taaaagcagg tcttgggatc ttatttccaa atggaaaacg 540
 cattcctcgg aaaaggaact ttccttctcc gtcggattcg tggaagattt catgcgtaat 600
 tttgaatcag ccaagaaggc ccgcgagacc ttctttggcc ccagcttcgc gtacaaggac 660
 ggcaaatggc atccaatac cagcgtaacg ttcaccggcg acccaacccc ctccaccaac 720
 gtcatggcga acatccagcc tgatggttcc gtgctgcttc agacgggggg aactacgaaa 780
 atgacggatt tcaagctgtt ccaaaatcgt ccctgcccc agaatatcaa gctggtcctg 840
 cctgacaagg ccgttaccag tcttgttcag gagaacatta actga 885
 <210> 37
 <211> 870
 <212> DNA
 <213> 嗜粘蛋白阿克曼菌
 <400> 37
 atgatagata agacgacatc ccgctcatt atggggcttt tgggaacagc ctgtgtcttg 60
 attacggcat ttgcctggta caagacgaaa tatgccgccc ttccggaggc cgggatgcac 120
 cataatattt atgacgaaga cattccgagg tctgctccgg ttctgtaga ttaccggatg 180
 gttttgttga cgccccagga gctggcaaag gcgctctgg ccgatgtgtt tacatgccc 240
 ctcggagatg agaatggagc gtttacctat gttgccagg gtgtggggga tatgaatgcc 300
 gcccgtaagg gaaggcatgc aggacaggat ttaaattggaa taggaggaga aaacacggat 360
 gagggactgc ccgtgcgggc cgccggccgc ggattgctga tttatgcagg agaaccttct 420
 ccagattggg gcaatgttgt cgtgctgctg caccgcttgc cggacggggc ttttgtgcag 480
 agtctgtatg cccatttgaa aaccgtcagc gatattccgc tggggactct ggtgggacgc 540
 ggagagcaaaa tcggctcagt cggaaactgc cacggcaatt atttggcgca tttgcatttt 600
 gagatgattg aatccatcgc tcatgaggcg ggaatgccgg gctatgggaa gacaacgttt 660
 aacagaatca atccggatga ggtgctaaag caatatgctc ccgaccgga aatgatgatg 720
 cctgatccta ttattgcctt gaaacaggtt cagatggcgg cggggtggga aaaactgctg 780

gagaatctgt ataaggataa cagcatggaa gctttggata aaatcctccc agacagtcag 840
ccgcccacgg aagaaaagga aaaacgctga 870
<210> 38
<211> 2619
<212> DNA
<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌
<400> 38
atgcccggcg gcaacctgcc gacgctgccc gtcaagcggg tgggtgctcc cactcctcc 60
attccggacc atgaagtgt acgccagata gggagcggcg cgtacggaga agtatggctg 120
gcaaaatccc tgaccggggc gtggcgcgcc gtcaaatcg tatggaggga ggattttgaa 180
gacgagcgt ctttcaaccg ggaatttgag ggcattctcc agtatgaacc catgccccgc 240
aaccatccgg ggctggtcca tatcctgcat gtagggaggc atgaccagga ttccccgttt 300
tattattacg tcatggaact gggcgacgac gcccgcacc gagttcatac tacaccggac 360
gaatatattc cgcgcacgct ccagacggac aagaagtttt ccggcaaca gcctcttccc 420
ctggattact gcctggaggt aggcagccag ctggcccacg cctgctgta cctgcacagc 480
aagaacctga cgcaccggga catcaagccg gcgaacgtca tctttgtcaa cgggcgcccc 540
aaactggcgg acataggcct ggtggcccat ctggaccagc gcagctttgt agggacggag 600
ggattcatcc cccccgacgg ccccgccacc cggcgggcgg acgtttacgc gctggccaag 660
gttctgtatg aatcagcac gggaaaggac cgcattgatt ttcccgaact cccgatgac 720
ttgccggaag gcaccgtgcg caagaaatgg caggcctca acaccatcat ttgccaggcg 780
gcggaacccc gcattgaaga atgctccatt gattccgcag aggagctggc ggaaaaaata 840
gacgccctcc gggggtatga agtgccttcc cgtttccgtc tcagaagaa aaagaaacgc 900
cgcaaacctca gacgggccct ccaacttctg gctgcagccg ccgcccggagc cctgactgcc 960
tactgggggg ctttatggct caacaacagc cagcatccgc cggaggaacc tgcctcggat 1020
attcatccgg atatccactc atccgctccg gaagaagaat cccggaccgg atacgtgctg 1080
gtgaccagct ccccgccggg agcgtccgtg tatgatgcgg acggcaacta tctggatgaa 1140
actccctacg gccccattga actgccttcc ggctccccgg tagcctatac catcaagaa 1200
tcggggtttg cggacaagga agaggcggga accgtcaaag gagggtccac gctggccctg 1260
ggcggcgtgc tgaaagagta ccatccccct acggacagcc agccctggaa ggatacggag 1320
ggtgttacgt acctgcccgc agaaacgcgc catgtggcgc aaggccccct taccgccgc 1380
ctgttcaaca aatttctgaa ggaggaccgc cagaaagga acttccagat gaaaaggaa 1440
cagacggaac cggggcatcc ggagaaggat gtggccctgc tcacgcagga cggcatcacg 1500
gcctacctgg cgtggctgaa caagaaatgc gagcgggagg ggctgctggg caaggaattt 1560
tccatcaatg cggatccgct tccgcagget tccggcagca cggaaaacca caatgcctac 1620
gtcctgaacg tcaccgcgt gttccaggtg cccattaccg tcaccaccaa tccgccggga 1680
gccagcgttt ttttcaataa caggetcatc gggcgtacc ccatggaaga atacgtcaac 1740
caggttcct acgtcattga aatcaaactg ccggggcacg ccaccatgcg tcgcaggggg 1800
ctggatccgc aggactata ctttcctg cagttggaac cggacaagtc tgctgttttt 1860
ggctcgcct ggaccaacag cctgggcac aaactggtcc ctgtgggtg gaatgctctg 1920

gtcatgacct acgaagtgcg cgtaaaggac tttcaggaat tcctgaaagc taccggaagg 1980
 aaagctccgg cccggcccgg ctttcccag ggagaagacc acccggtggt gaatgtcagc 2040
 aggcaggatg cgcgcgcctt cgccagatgg cttaccagca aagagcgggc cctgggcctg 2100
 attgatcagc acgactccta ccgtcttccc aaggatgagg aatggagttc ctgggtgcgt 2160
 ctgacggatg aacagggagc ctccccctat gaaaagacgc tgcctcatga aaactcccgg 2220
 gaagccttcc cgtgggggta ttcattggccg ccgcctgata aaacgggaaa ttttgccgac 2280
 cagtccgccc tgatttacct gccgtcctcc cgcgttatcg taggatataa cgacggacag 2340
 ccgtatacgg cccccgtaaa aacctttccg cccaaccacc tgggcctgta cgacctggaa 2400
 ggaaacgtca tggaatgggt agacgattcc tacggggggc cggaatccct ccccatccgc 2460
 aactacggcg tcgcccggg aggcagctac ctgtccttcc gccccaaaca gctcaccact 2520
 tccatccgca ctccccctgc ggaaaatacg agggataacg cgctgggctt ccgtcttacc 2580
 ctgtcttccg aacgccccgc cattccaaca gctcctga 2619

<210> 39

<211> 1611

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 39

atgctgacga tcaaaaatct cacaaaatcc cacgccggac ggaccttggt cagggaaacg 60
 gaaatgacca ttaactgggg ggaacgggtg gctctggttg gccccaacgg agcaggcaaa 120
 tccaccctgt tccgcatgat tctgggagaa gacacgccgg acgaaggctc catcagcatg 180
 gatgaatacg ccatcgtggg ctatcttccc caggaagcca gccaaccgaa ggatgaaacc 240
 gtcttggaaa tcgccctggg catcacgccg gaaatggaac agcccatcca caccatccgg 300
 acggcggaaa acgccaacaa aacggatacg ccggaatacg cggaagccat tgacaccttc 360
 aacgccgcca acggttacca gctggagccc aaagccaaga aaattctcaa agggctggcc 420
 tttcgggaaa gcgacttcca ccgccccgcc cgggaaatgt ccggcggctg gattatgcgc 480
 gcgtacctgg ccaagctcct tgtcctggag ccggacctcc tgatgctgga cgaacctact 540
 aaccacctgg acctcctgtc cctgctgtgg ctccagcgat acctgaaaaa ctaccccgga 600
 gccatcctga tgatttccca cgaccgggat ttcattgatg agctggtgga aagcgtgtac 660
 gacatcgaca acgaagaact ggtggaatac cgcggcaatt actcggactt cctccaacaa 720
 aaggacgtgc gcttcgagca gcttcaggcg gctaccgca accagcagaa ggaaatagcg 780
 cacattcagg aatttattga ccgtttccgc tccatcaatt ccaaagccgg gcaagtccag 840
 agccgcatca agcagctgga aaagatgaaa atcattcaaa aaccggtagc ctgcaggaaa 900
 gtattttaa atcaacttccc ccagcctccg cgcagcacc agaaagtcac tgagctggaa 960
 aaagtctgcc aatcctatgg cgaccgcagg gtttatgaaa atttggacct gctggtggaa 1020
 cgcgggggagc gcaactgttct ttaggccccg aacggcgcgg gcaaatccac tcttctcaaa 1080
 atcctggcgg gcaatcctcc cattgactcc ggacaacgca ctcccgttac cagcagcgc 1140
 atcggctact tctcccaggc gcgaacggaa aacctgaacc cggaaaatac cgtgctggag 1200
 gaaatcatga aatgcagcgc tgaaatccgg gaggaagaag cgcgttccat cctgggttcc 1260
 ttctgttcc ggaggctgga tgtggaaaaa cgcgtcagcg ttctttccgg cgggaaaaaa 1320

tcgcggtca gcctggtcaa attcctggtg gatccgceca acctcctgct gatggacgag 1380
 ccgaccaccc acctggacct tttgtccgta gaagccctgg tgcaggctct gaagcattat 1440
 gaaggaacac tggcttcat ctcccacgat gtgcacttca tccgttcctt ggcacaaaaa 1500
 accctgcatg tgaaccgggg gaccatcacc gcctacgcag gcggatatga ctactatctg 1560
 gaaaagtcag gcattctgga cgatgaaaaa ggcgcatca cggcggaata a 1611

<210> 40

<211> 444

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 40

atgattcaaa cgtatcaagt actcctgtg gtggccatcg tatgctcgc ttccgccttt 60
 gcccagaacg ctgccgatcc cgtgcagatg gtcaagcaga atatcgacct gatttcttcc 120
 gccacaagg ttttggacga cgtgaaggac aacgctgcgg ttgaaatcgc cattaagcag 180
 ctcaatgcgt tgaccagca ggccaagcag ctggacaagt ccatggaaa gatgaggctt 240
 acttccgagc aggctatccg catcaccaaa ttgaacggag acgccagga caccatcgtg 300
 gatatgctgg aaaattgca gcgattcaa aaggacaagc tgatgactcc ggctttgctc 360
 aaggcggtga atgattttgc cgacgccgc aacatcgac tgggtgaaac gattacgacc 420
 gtggagcaaa ttgtggaaga ttga 444

<210> 41

<211> 948

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 41

atgagcaata tcaaccatt cattctaaca gggatgatgc cgctttcagc ctcatccatg 60
 aaccgtgtct cctacatgtg cccggtcacc atcagcaatg atgtagtgca gggccagacg 120
 gacattcagg attcccttac cgttgattcc ggcgaaatc ttacatcat caacgctcct 180
 gtttacgtgg gcggcccaa ccagccggac cacgggcacc gcaccgcca cctcgtcatc 240
 cggaacggag gcgcatgac gctcctgggc aatctgccgg accatatgac cgttttcctg 300
 ggggacaaaag ccaacggcag cctggaaatc aacggcgcc gccttctgat gggccagggg 360
 cgcatcagg gcgccagga gcatgaaggc agaatcgcca tgacggacgg ctggctcttc 420
 gcctcggaag tggatctgcc ggcggagggc tcggaactcg tgatcaggca cggcctgatg 480
 cgtatcagaa aactctccgg caatgcatc accgcattt acggaggcgt tctgcacgta 540
 aaggaggaag cccgcgccag ccgcatccat ctgatagacg acggcgtgct gctgctgggc 600
 agcgtacca gccagcttc cgcggacgtc atggccggag cgggcatcaa ctccgcggg 660
 gacggcggag cgctggtaat ccgcatccc caccggaaa acgctctgac gcgcacgcgg 720
 gaagcggaac atgtctttga cgaactgtc cggaggggca agctctttca tgacagtgaa 780
 cccatgacca gcttccaggg gttccatag agggagtta cggggcatga cggactggcg 840
 tacgccgcgc tgcgccctc cgcccagctg aacgcggaac agaatcaggt taccgcctg 900
 ctccatacgt tcatgtacgg cggcagtga aaggacatgc ccatctga 948

<210> 42

<211> 522

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 42

atggataaac aatccacaga tcataaagag gaaactctgg tggccatgct ggcacatcttc 60
 cgcaaggaag cctgttacca tgacaccttc gaggaagatt tcctccgcaa ttttcatctc 120
 agaaaggaaa ccgatcaggc tgcccactct gcttggaat tgctgctcga acgcctggac 180
 aattatctgc agaactttcg tggttgagc tgggtctatg cttccatgct catcgtgaca 240
 ttggctgcgg taggcggtat tatcgcctcc ggaacatgg atgaaccttc tgaatcttac 300
 gtatcctcca ccaaggataa ggaagaaata ctctgacga aaaaagccgt tcccgttaagt 360
 aaggaaacta ttgaacgaac ctcaaccgaa gttgctccca cggaaaaacc tgaattcacc 420
 acgggagact cttcatatga aacatcggcc aaagacaacc agctgaaacc tgattcccat 480
 gccgataaaa aaccggtatc ccgcgttctc attgagatgt aa 522

<210> 43

<211> 603

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 43

atgacgtttg ggagtctctc acagagtgcc cttcctggcg gtttcattcc ttacggcggg 60
 aatttttatg cttccaatta cacgatctcc ctctggctgg atacctcttc cttaacggaa 120
 ggaaccacaga ccacgctggt tgggtattat ggcaccaatg cgggccaag ttacgggaca 180
 aatgccttgt atctgacgac agatgccaag cttggcatgg gagatggaaa tttggatact 240
 tctaccggct ctttttccca aaaccgtgga gacgtttctg aaactcccgt tgttttgag 300
 ggaggctctc ttaacgtgac tctagccgtt actggcgcag accaaagcca gtctgtggag 360
 gtctatgtga atggttcctt gcttgacacg ttgtcctaca acggcaacat gaacggaaat 420
 cgcactgata tccaaggatg gattaatccc aatcttcat ggggtgaaat tcagtggacg 480
 gatacaaaac tttccgcgga acagattgcc ggttttgccg gccttcaggt tccggaaccg 540
 gcctcggctt ctctgggaat cctgggctg gccgttctga tgatgcgccg ccgcccgttc 600

tga 603

<210> 44

<211> 330

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 44

atgaaaaaat tgatctatat gatagcggca gcggccgttg cgattccggt ggtggccctg 60
 gccagggag cctgcggcag cggtcctgct tccaaggag acaaggacat ggctgaagcc 120
 aaagagcaca tgaagaggc cgccaaggct gcccaaggac ccgcctccga aaaaatgaag 180
 gaaggcaggc aggctgccag ggacgcctat gaaaaggca aggaaaccgc cagggatgct 240

tatcaggaca gcagggacgc cgttgacat gcgcgcgaca ggactgccga taaggccgaa 300
 gccgtcgggtg acgctgtgaa aaacggttaa 330

<210> 45

<211> 1458

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 45

atgattccgc tccgcattgt tcttgectec ctggcatgcc tgtaccggtt ctctctggct 60
 caggagccta aatcggatcc cgataaaacg ctgattatca tttctaccag cgatatccac 120
 ggcaatctgg acaatttccc aagactggcc aactggtaa agcaataccg cgctaaatat 180
 ccgcacgtgc tgctgggtga ttcaggtgat tatttcatag gcaatccta tgtggacgac 240
 tgtgaaaaac ggggcgaacc ccttactatc ctgatgaaca agctggggta tgatgtagtg 300
 accatcggaa accatgatct ggattacggg caggaggccc tgcgcgacca tatcaaggga 360
 atgccctcca ccaagtttgt cattaccaac gccagccttt cccaactct ggaaaactgt 420
 ttttctccgt atgtcagcat cccgattaaa ggaacgtcca tttccgtagg ggtcatagga 480
 ctggcagacc ttcaaaccac ggatgtgagg aggatgaccg gcatctcatg gaagctgccg 540
 gatgaagaag actacaaggg aatcacggac aggttccggc tccaccataa taccatcaac 600
 gtcacctca gccatctggg atacggcaat gatctgaaaa tgatgaagta ttctccgaat 660
 atcgacgtca ttcttggagg ccataccat gtcatgtcgc ccagcgtca tctcagaacc 720
 ggaaccctgc tcagccacac gggacacagc ctgagccatg taggcgttac gaaattatt 780
 ttctccacgg aacatcccgt ctccatcctt tccaaatcaa ccagggccgt ttctttgaat 840
 gaggaaattc ccgatgacc ggaagtaaag gaaattgtcc gccgattttc cggaaatccg 900
 cttttcaacc agcaagtggg cgtcgccgga gaagaaatca cgcacgtcac cataggcacc 960
 cttttctgca aggccattca gcaggcctcc cattcggata ttgccattta caaccgcggc 1020
 ggagtacggg ccaaaaacca tcttaacaaa ggaccctta ccatcaggga catttacgag 1080
 ctggaaccct tccgggaaaa gatcgtcacc tgctccatga gtaaagcgga cattgaacaa 1140
 ctgatcctgt ccaaatcat gtctccgacc gatgacgaag gagcggttct ggaagtgtac 1200
 tgctccggat tctcctacca gatcatggac ggtgttacgc ccagcattac cagcaccttg 1260
 aaaaacgggg tcatttacac tgtcgcgatg ggagactacc tgtgcagcaa tttcatattc 1320
 cccaacggg ggaacggcaa accgacggga atagatgtcc gaaagccct gattgattac 1380
 ctgaaacaaa tcaaggagct gctcaatcct ccgccgtcca agctacctat catcaaagat 1440
 acgacgttcg ccctgtga 1458

<210> 46

<211> 789

<212> DNA

<213> 嗜粘蛋白阿克曼菌

<400> 46

atgaagaaat ccttgttgtc tttagcttta atctcaagta ccttgcttgc cgtagaggcg 60
 gcaacgggtgc aaattgattt cggacgcagt gacgccacga cggacggcgt gctcaatag 120

aattatgata gtgcctccgc cgctttgggc agcatgccgg gaagcgtttc tttggcatgg 180
agtacggcag aatggcctgt aggggataat ggccatacca ccaccaagac agttgaggaa 240
gaagccgatt ggaaaaatcc tttcaacggc agcatgcctt tcagcttggg ggacactttt 300
cgtgacggtc ttttaacgca gacggccgac gggctccggct ctttactgt aacgttcagc 360
ggctcttgccg ccggggagta ttccttgtcc atctttggag gtttcacagg caaggatgca 420
tttgccggtc aaacctggac gatcggaaac gccgatgctt ccaatgccgt ctggacaagc 480
ttcggcacag acgccagcgg gaactgggcc gaaatttctt ccgtgacggg cgataattcc 540
ggagtcctta ctccggcgaa cgcttccact tccagcgcta ctgctaataa agggctttat 600
gctacggtag agaatgtcgt ggtaggggaa gacgggacgc ttacccttac gattcagggg 660
gatgggagca aggggtacgg cttacagcc cttattacc tttccctgac gcaggtgccg 720
gaacccgcta cggcagcatt gagcctgctg ggcgctgctg cctgtttct gcgccgccg 780
agggactga 789

<210> 47

<211> 1190

<212> DNA

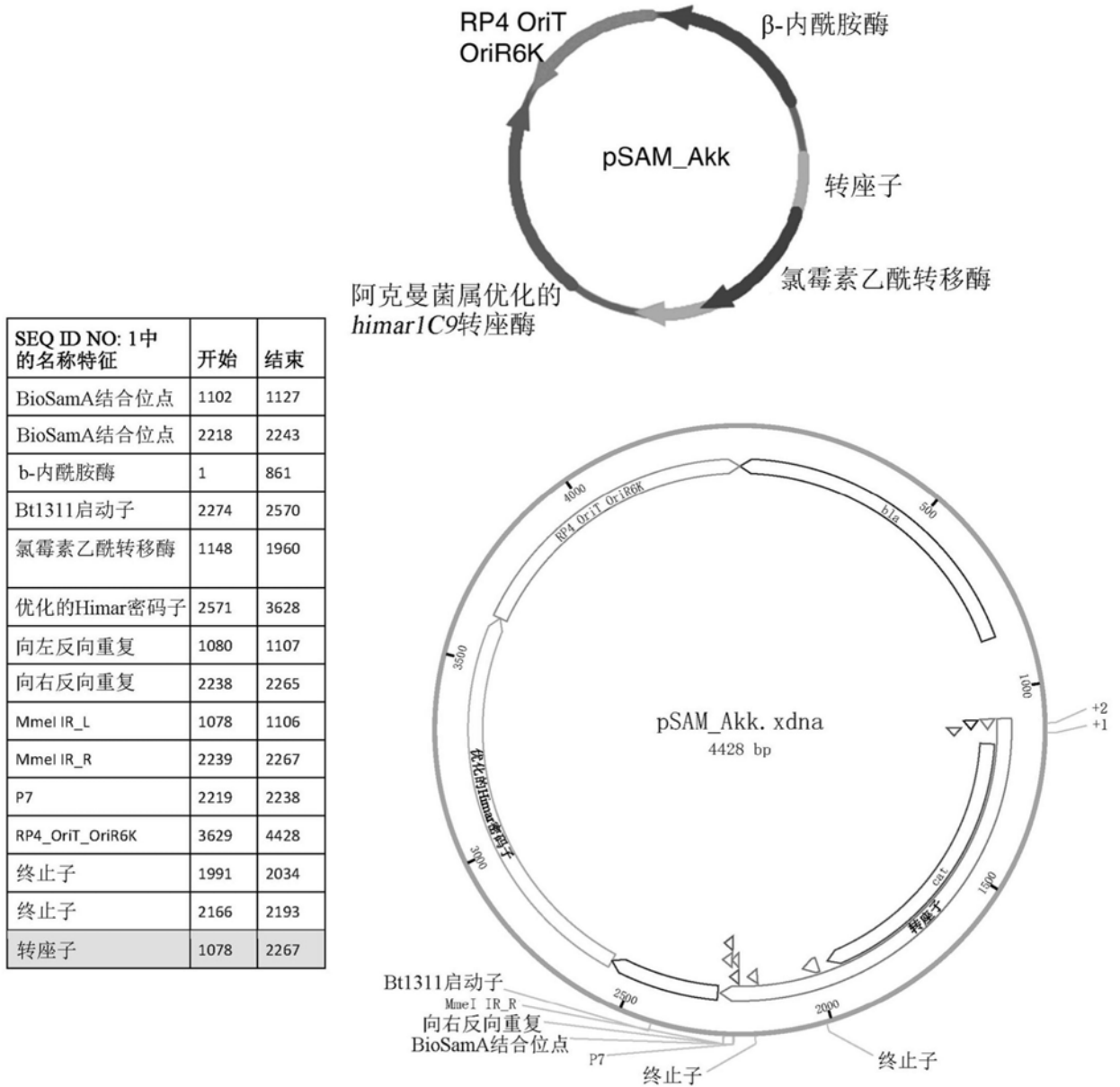
<213> 人工序列

<220>

<223> 来自pSAM_Akk的转座子插入物

<400> 47

taacaggttg gatgataagt ccccgttctt cgtatgccgt cttctgcttg gcgcgccctc 60
gagcaattgc gctcgtaga ggttccaact ttaccataa tgaataaga tcaactaccg 120
gcgtatTTTT tgagttatcg agattttcag gagctaagga agctaaaatg gagaaaaaaa 180
tcaactggata taccaccgtt gatatatccc aatggcatcg taaagaacat tttgaggcat 240
ttcagtcagt tgctcaatgt acctataacc agaccgttca gctggatatt acggcctttt 300
taaagaccgt aaagaaaaat aagcacaagt tttatccggc ctttattcac attcttgccc 360
gcctgatgaa tgctcatccg gaattccgta tggcaatgaa agacggtgag ctggtgatat 420
gggatagtggt tcacccttgt tacaccgttt tccatgagca aactgaaacg ttttcatcgc 480
tctggagtga ataccacgac gatttccggc agtttctaca catatattcg caagatgtgg 540
cgtgttacgg tgaaaacctg gcctatttcc ctaaagggtt tattgagaat atgtttttcg 600
tctcagccaa tccctgggtg agtttcca ca gttttgatt aaacgtggcc aatatggaca 660
acttcttcgc ccccgtttcc accatgggca aatattatac gcaaggcgac aaggtgctga 720
tgccgctggc gattcaggtt catcatgccg tttgtgatgg cttccatgtc ggcagaatgc 780
ttaatgaatt acaacagtac tgcgatgagt ggcagggcgg ggcgtaattt ttttaaggca 840
gttattgggtg cccttaaacc cctggtgcta cgctgaata agtatgcgag agtagggaac 900
tgccaggcat caaataaaac gaaaggctca gtcgaaagac tgggcctttc gttttatctg 960
ttgtttgtcg gtgaacgctc tccctgagtag gacaaatccg ccgggagcgg atttgaacgt 1020
tgcaagcaa cggcccggag ggtggcgggc aggaccccc ccataaactg ccaggcatca 1080
aattaagcag aaggccatcc tgacggatgg cttttttgcg tttctacctg cagggcgcg 1140
caagcagaag acggcatacg aagaccgggg acttatcatc caacctgtta 1190



阿克曼菌属相容的转座子载体pSAM_Akk (SEQ ID NO: 1)

图1

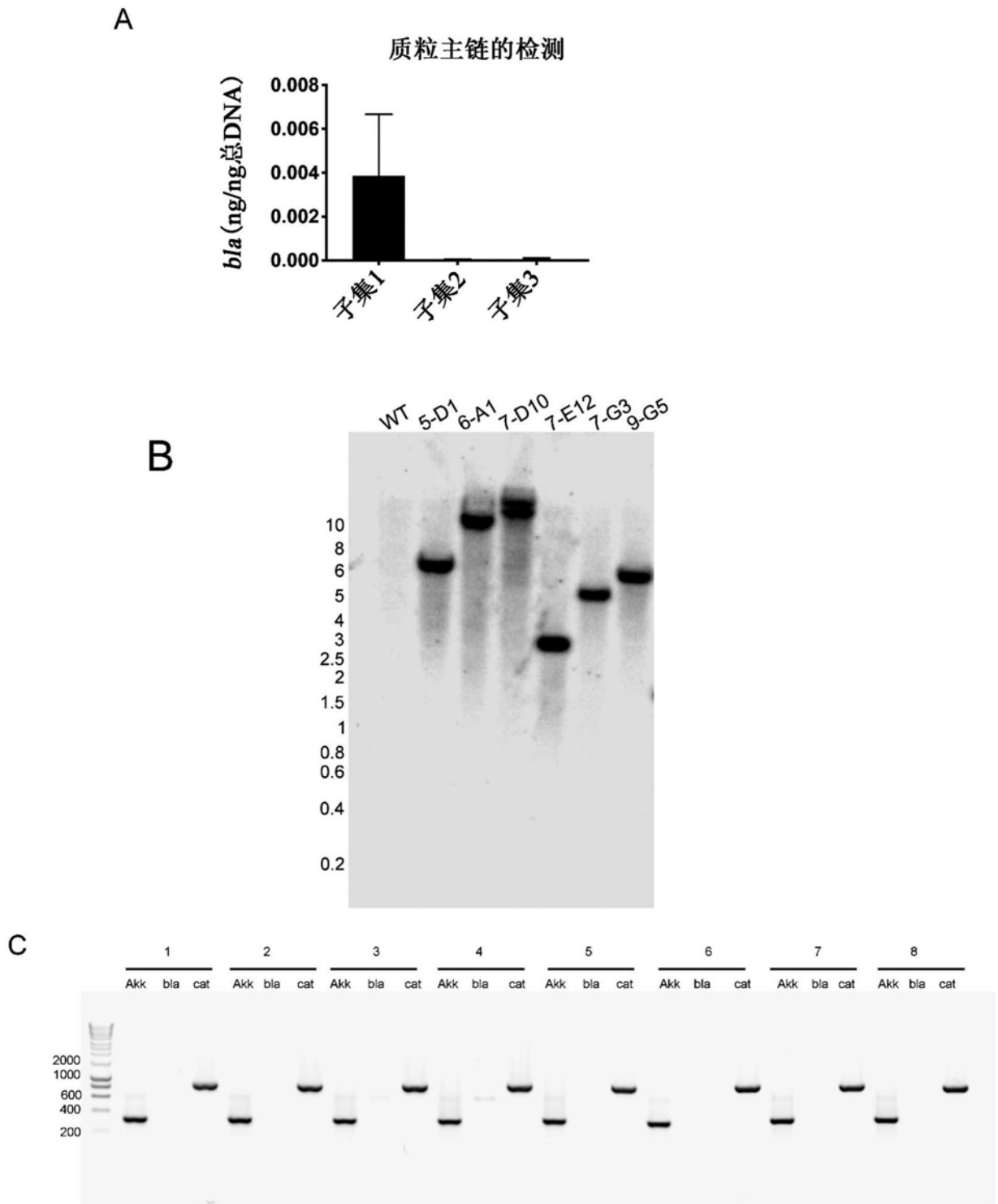


图2

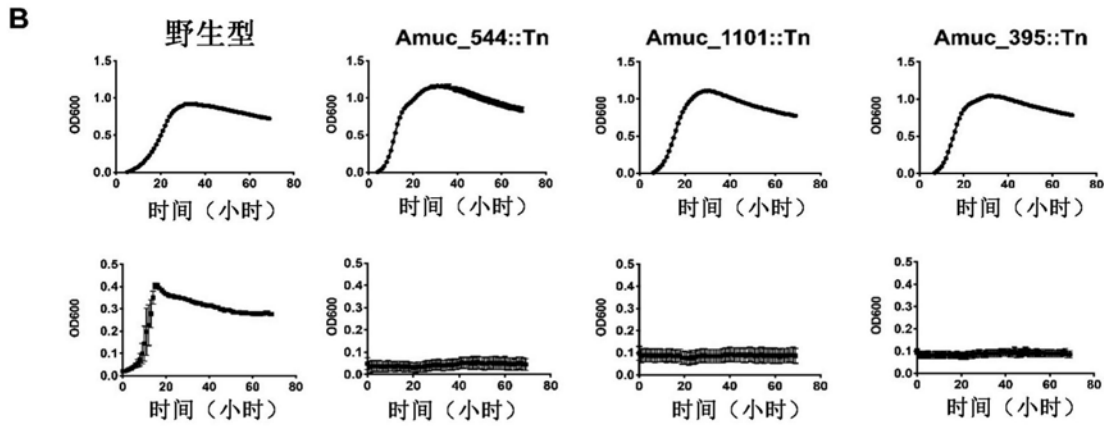
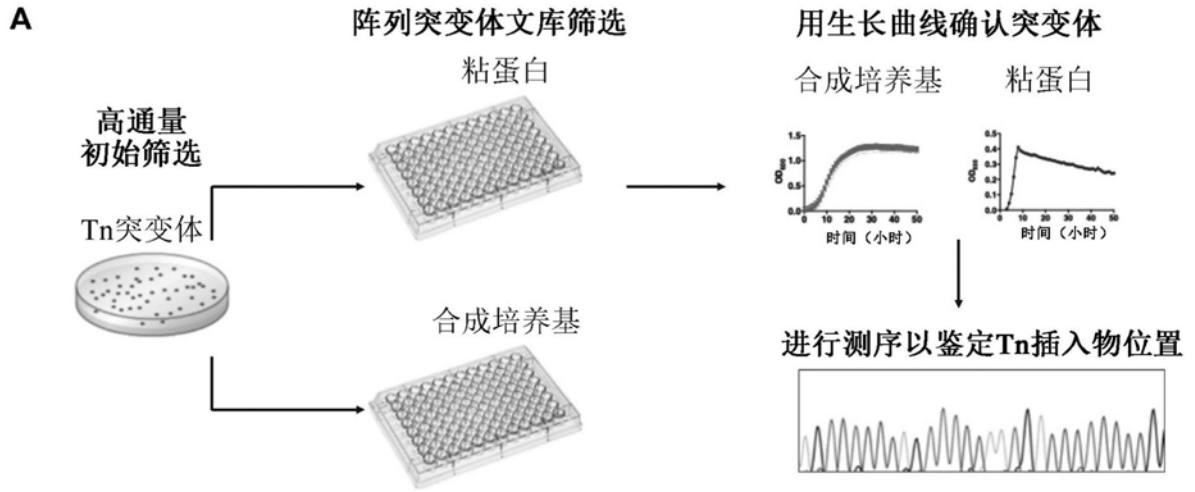


图3

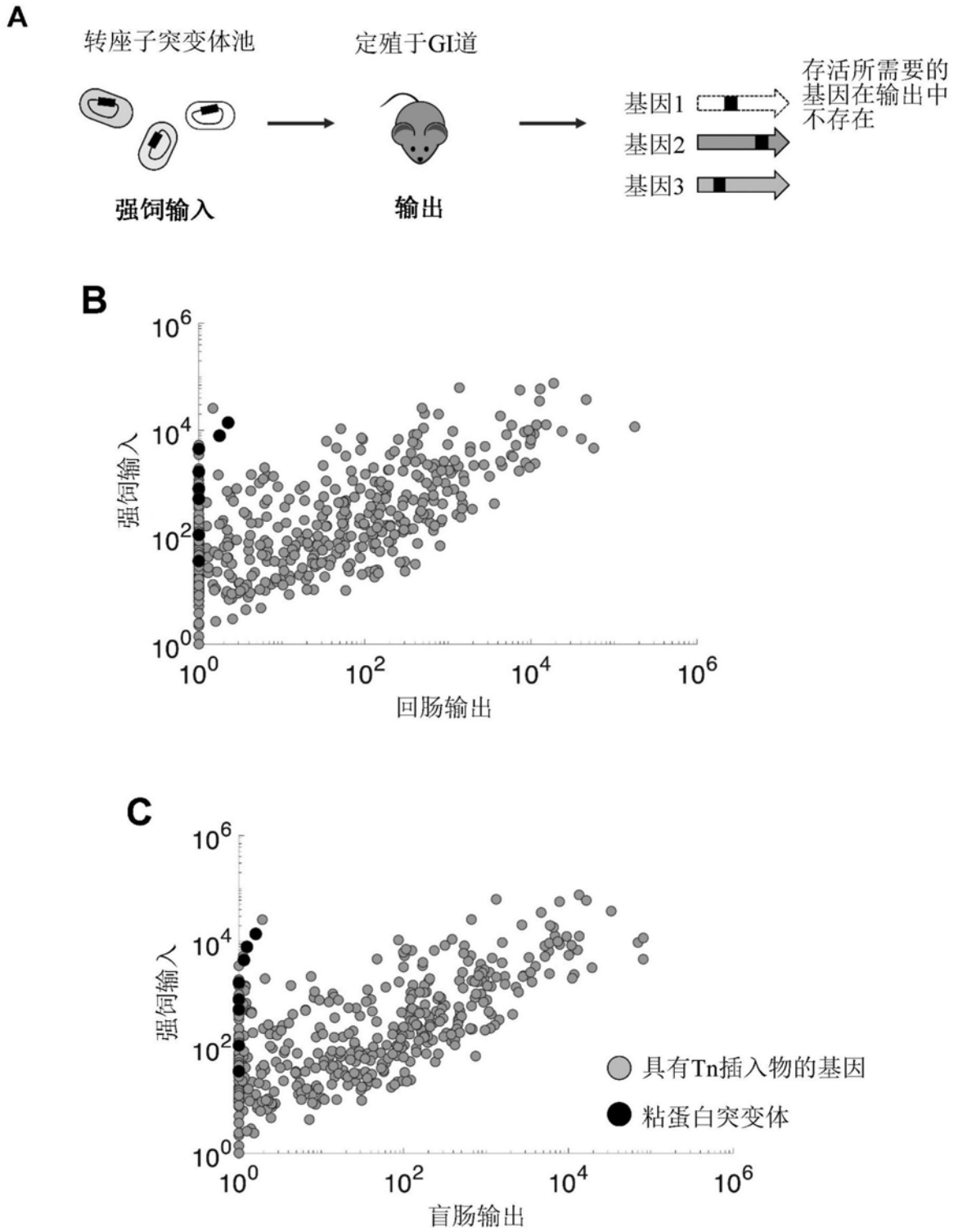


图4

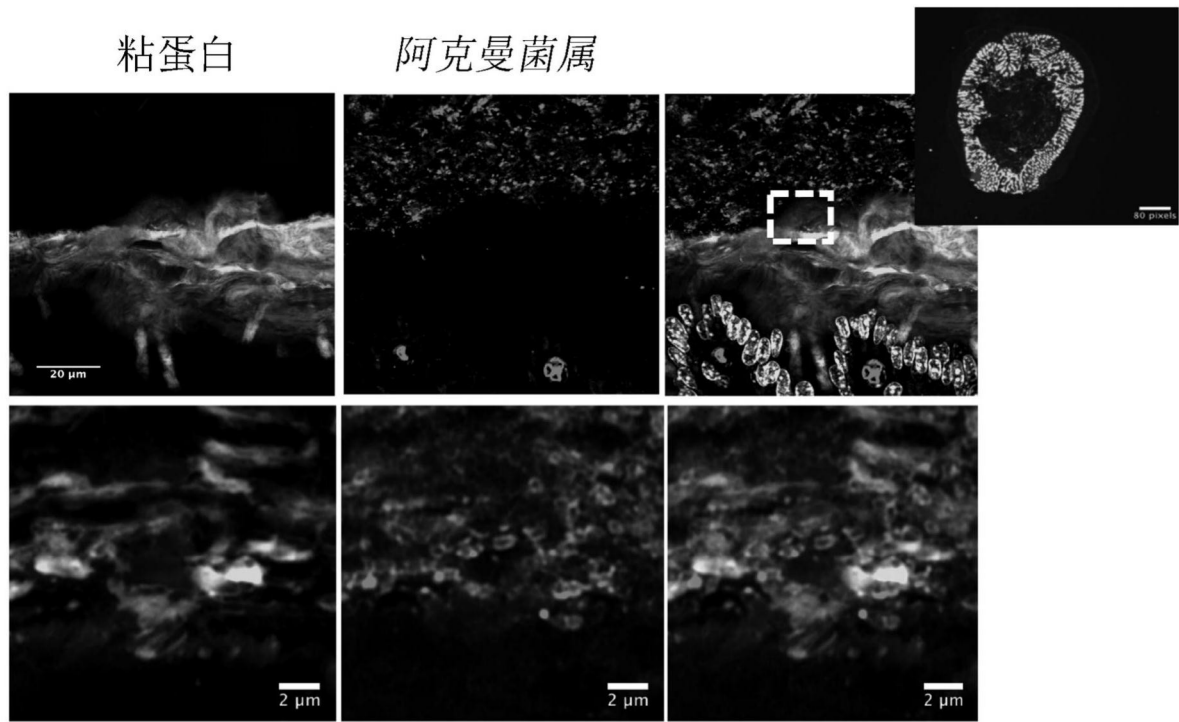


图5

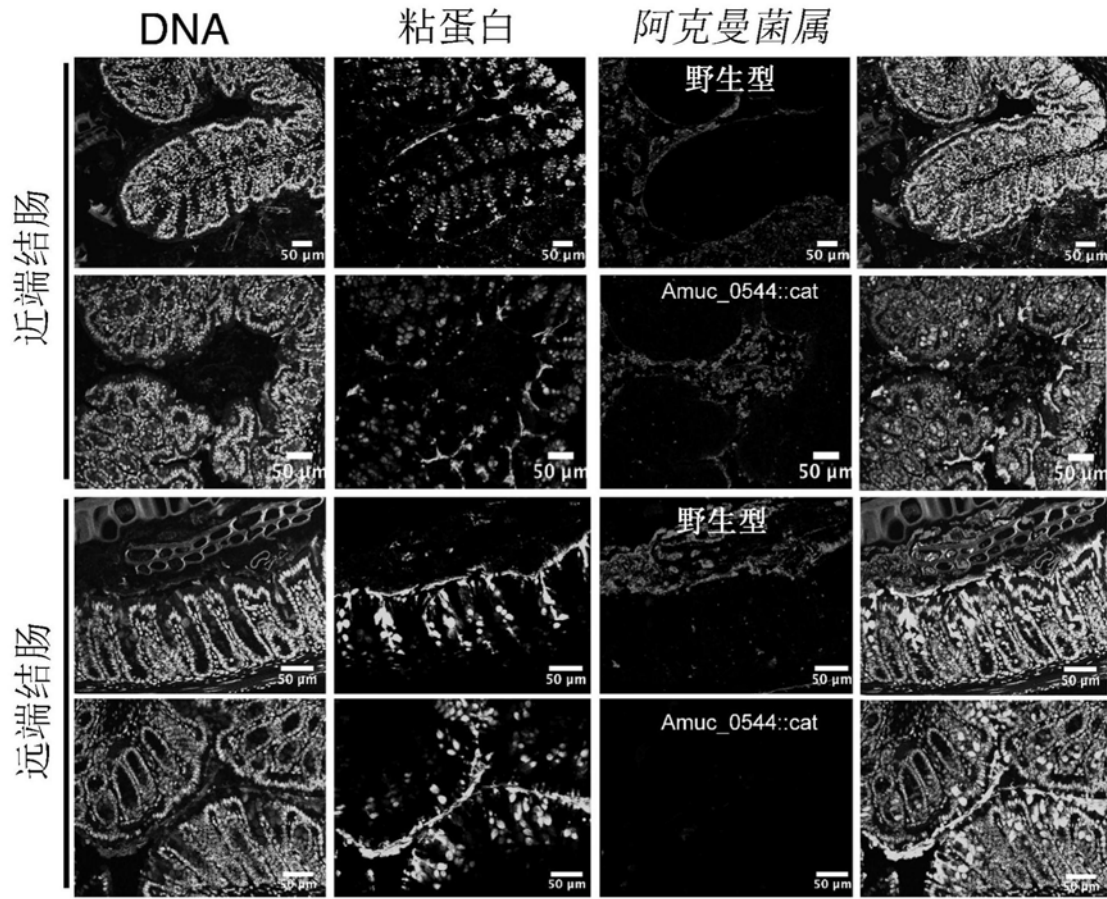


图6