



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105483050 B

(45)授权公告日 2018.12.18

(21)申请号 201511029973.9

A23K 10/12(2016.01)

(22)申请日 2015.12.31

A23L 11/00(2016.01)

C12R 1/25(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105483050 A

(43)申请公布日 2016.04.13

(83)生物保藏信息

CGMCC No. 11721 2015.11.23

(73)专利权人 北京英惠尔生物技术有限公司

地址 101109 北京市通州区漷县镇漷县村
南规划五街5号

(72)发明人 江衍哲 余际国 郭庆 王宏

张虎

(74)专利代理机构 北京风雅颂专利代理有限公司

11403

代理人 王安娜 李翔

(51)Int.Cl.

C12N 1/20(2006.01)

A23K 10/30(2016.01)

A23K 10/37(2016.01)

(56)对比文件

CN 102690771 A,2012.09.26,

CN 103205376 A,2013.07.17,

CN 104651268 A,2015.05.27,

CN 102936572 A,2013.02.20,

CN 104611275 A,2015.05.13,

CN 104651268 A,2015.05.27,

CN 104336416 A,2015.02.11,

CN 101085982 A,2007.12.12,

WO 2011115114 A1,2011.09.22,

刘晓红等.植物乳杆菌固体发酵饲料工艺的研究.

《湖北农业科学》.2012,第51卷(第13期),

敖晓琳等.接种植物乳杆菌(Lactobacillus

plantarum)对小规模饲料稻青贮品质的影响.

《微生物学通报》.2014,第41卷(第6期),

审查员 梁韶

权利要求书1页 说明书7页

序列表1页

(54)发明名称

一株植物乳杆菌及其在发酵饲料中的应用

(57)摘要

本发明公开了一株植物乳杆菌 Lactobacillus plantarum,其特征在于,所述菌株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏地点为北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所,保藏登记入册的编号为CGMCC No.11721,保藏日期为2015年11月23日。本发明提供的菌种在生长、产酸、抑菌等方面表现出很好的性能,其发酵产品具有良好的饲喂效果。其代谢乳酸可抑制肠道病原菌生长,从而能够显著提升畜禽的免疫力,改善肠道微生态环境,降低发病率,并对消化率、产奶量等方面带来一定提升。

1. 一株植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*), 其特征在于, 所述菌株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏地点为北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所, 保藏登记入册的编号为CGMCC No.11721, 保藏日期为2015年11月23日。

2. 一种如权利要求1所述的植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 在发酵饲料中的应用。

3. 根据权利要求2所述的应用, 其特征在于, 包括:

向谷物原料中加水混匀, 制得发酵培养基, 将所述植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 接种于所述发酵培养基中发酵, 制得发酵液;

将非发酵原料混合物与发酵液混合, 制得发酵饲料; 其中, 所述非发酵原料混合物包括氨基酸、维生素、微量元素、食盐、石粉、磷酸二氢钙、白砂糖和超级蒸气鱼粉。

4. 根据权利要求3所述的应用, 其特征在于, 将所述植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 与酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 都接种于所述发酵培养基中进行协同发酵。

5. 根据权利要求4所述的应用, 其特征在于, 所述酵母菌为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) Sa-10已保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, CGMCC No.6120。

6. 根据权利要求3所述的应用, 其特征在于, 所述谷物原料为膨化玉米、去皮豆粕或发酵豆粕、红薯粉或黄豆粉、大米面或小米面、小麦面粉, 所述膨化玉米、去皮豆粕或发酵豆粕、红薯粉或黄豆粉、大米面或小米面、小麦面粉和水的重量百分含量依次为1~20%、1~50%、1~20%、1~20%、1~20%和50~90%。

7. 根据权利要求3所述的应用, 其特征在于, 所述谷物原料为大米面、黄豆粉和玉米粉, 所述大米面、黄豆粉和玉米粉的重量百分含量依次为1~30%、1~30%和40~80%。

8. 根据权利要求3或4所述的应用, 其特征在于, 所述植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 的接种量为1%~3%。

一株植物乳杆菌及其在发酵饲料中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及微生物应用和饲料调制加工领域,特别是涉及一种用于提升动物免疫力的植物乳杆菌及其在发酵饲料中的应用。

背景技术

[0002] 发酵饲料具有适口性好,安全、无污染、无药物残留、易消化等特点。通过饲喂发酵饲料可以提升动物免疫力,减少疾病的发生,降低腹泻率、死亡率等,可以减少或替代抗生素的使用。

[0003] 植物乳杆菌发酵过程可以利用原料中的乳糖产生乳酸,乳酸与钙结合可以促进钙的吸收,因此对于有乳糖不耐受的群体,尤其处于快速生成发育期的群体,发酵饲料有很大优势。饲料经过乳酸菌发酵产生了多种乳酸菌代谢产物,包括维生素类、酶类和各种生物活性物质等,发酵饲料更易于消化吸收。但是,目前的植物乳杆菌的发酵能力有限,在发酵饲料中的生产应用效果不佳。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明的目的在于提出一株植物乳杆菌及其在发酵饲料中的应用,以提升动物的免疫力,减少疾病的发生,降低腹泻率、死亡率等。

[0005] 基于上述目的,本发明提供的植物乳杆菌*Lactobacillus plantarum*保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏地点为北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所,保藏登记入册的编号为CGMCC No.11721,保藏日期为2015年11月23日。

[0006] 本发明还提供一种上述物乳杆菌*Lactobacillus plantarum*在发酵饲料中的应用。

[0007] 在本发明的一些实施例中,所述应用包括:

[0008] 向谷物原料中加水混匀,制得发酵培养基,将所述植物乳杆菌*Lactobacillus plantarum*接种于所述发酵培养基中发酵,制得发酵液;

[0009] 将非发酵原料混合物与发酵液混合,制得发酵饲料。

[0010] 在本发明的一些实施例中,将所述植物乳杆菌*Lactobacillus plantarum*与酿酒酵母*Saccharomyces cerevisiae*都接种于所述发酵培养基中进行协同发酵。

[0011] 在本发明的一些实施例中,所述酵母菌为酿酒酵母*Saccharomyces cerevisiae* Sa-10已保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,CGMCC No.6120。

[0012] 在本发明的一些实施例中,所述谷物原料为膨化玉米、去皮豆粕或发酵豆粕、红薯粉或黄豆粉、大米面或小米面、小麦面粉,所述膨化玉米、去皮豆粕或发酵豆粕、红薯粉或黄豆粉、大米面或小米面、小麦面粉和水的重量百分含量依次为1~20%、1~50%、1~20%、1~20%、1~20%和50~90%。

[0013] 在本发明的一些实施例中,所述谷物原料为大米面、黄豆粉和玉米粉,所述大米

面、黄豆粉和玉米粉的重量百分含量依次为1~30%、1~30%和40~80%。

[0014] 在本发明的一些实施例中,所述植物乳杆菌*Lactobacillus plantarum*的接种量为1%~3%。

[0015] 在本发明的一些实施例中,所述非发酵原料混合物包括氨基酸、维生素、微量元素、食盐、石粉、磷酸二氢钙、白砂糖和超级蒸气鱼粉。

[0016] 本发明提供的菌种在生长、产酸、抑菌等方面表现出很好的性能,其发酵产品具有良好的饲喂效果。其代谢乳酸可抑制肠道病原菌生长,从而能够显著提升畜禽的免疫力,改善肠道微生态环境,降低发病率,并对消化率、产奶量等方面带来一定提升。

具体实施方式

[0017] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明白,以下结合具体实施例,对本发明进一步详细说明。

[0018] 实施例1植物乳杆菌*Lactobacillus plantarum*的分离和鉴定

[0019] 所述植物乳杆菌EM-12菌株于2015年11月23日保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为:CGMCC No.11721,保藏单位地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,邮编:100101。

[0020] 本发明提供的植物乳杆菌EM-12是自内蒙古四王子旗牧民自制发酵牛乳中分离筛选获得,具体分离鉴定步骤如下:

[0021] 1) 取大米粉、黄豆粉与玉米粉按重量比1:1:1的比例混合,取上述混合物按照料水重量比1:4的比例加水混合,制得培养基;

[0022] 2) 取含活菌的发酵牛乳样品,按照2%的接种量接种于所述培养基中,充分震荡混匀,36℃厌氧、静置培养,培养时间24小时;将上述培养液在此培养基中反复传代3次,获得适合发酵谷物类的乳杆菌菌种;

[0023] 3) 取上述培养液1mL,接种梯度稀释并涂布于MRS平板上36℃培养72h;挑选单菌落接菌于MRS液体培养基中36℃培养18h,以备保藏和鉴定使用。

[0024] 4) 将菌种送至中国科学院微生物研究所进行鉴定,根据菌种细胞形态、生化特征、16S rRNA基因序列、*pheS*基因序列等综合分析,鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。

[0025] 该菌株的细胞形态和理化实验结果见下表:

AGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGG
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGTGACTGCCGGT
ACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGA
TGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAAC
TCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACCCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCTAAGTGA
CAGA

[0030] pheS基因序列测定结果:

[0031] GGCACAATTACAAGACGTGCTACTACGCACGCAGACGTCTGCTGATCAGCCGCGTCACTTGAAAATC
ACGATTTTTCTAAAGGACCGCTGAAGGTCTGTACCTGGCCGCTTATCGGCGTGATACGGATGATGCAACCCAT
TCCCATCAATTTTCATCAAATTGAAGGGTTAGTCGTGGACAAGCATATTACGATGGCTGATTTGAAGGGCACCTTAAT
TCTGGTTGCCAAGACTTTGTTTGGCGATCAATTCGATGTTCCGGCTACGGCCAAGCTTCTTTCCATTACGGAACCAT
CCGTAGAAGCTGATGTAACCTTGTCTTAATTGCAATGGCAAGGGCTGTGCAATCTGTAAGCAAACGGGTTGGATCGAA
GTACTGGGTGCCGGCATGGTTCACCCACGTTAGAAATGTCTGGCATTGATCCAGAAGAATATGGTGGTTTTGC
TTTCGGTCTAGGGA

[0032] 实施例2植物乳杆菌EM-12菌体生长性能及产酸性能的测定

[0033] (1) 培养基的配制:

[0034] 取一定量的谷物原料粉碎至1.0mm,按料水重量比1:3的比例加水混合,然后将混
合料液高温灭菌,再降温至36℃左右,获得发酵培养基。其中,所述灭菌条件为121℃灭菌,
时间20分钟。所述谷物原料包括大米粉、黄豆粉和玉米粉,所述大米粉、黄豆粉和玉米粉的
重量比为1:1:1。

[0035] (2) 发酵菌种的获得:

[0036] 取甘油管保藏该乳杆菌菌种,将其接种至MRS培养基,36℃静置培养20小时,获得
乳杆菌菌种。其中,所述MRS液体培养基组成如下:10g蛋白胨、5g牛肉膏、4g酵母浸粉、20g葡
萄糖、2g磷酸氢二钾、5g乙酸钠、2g柠檬酸三钠、1mL吐温80、0.2g硫酸镁、0.05g硫酸锰加入
1000mL蒸馏水,调节pH至6.5,121℃灭菌20min。

[0037] (3) 将所获得的乳杆菌菌种按体积比2%的接种量接种于步骤(1)的发酵培养基
中,36℃静置厌氧培养,培养时间20小时,获得发酵液。取发酵培养基稀释10倍后,在600nm
下测定吸光度值,吸光度值为 0.76 ± 0.02 。取发酵液离心测定pH和乳酸含量,其中pH值为
 3.80 ± 0.05 ,乳酸含量 $7.5 \pm 0.5\text{g/L}$ 。

[0038] 对比实施例2植物乳杆菌标准株产酸性能的测定

[0039] 取中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物菌种保藏中心植物乳杆菌标准株,
按照实施例2的步骤(1)、(2)和(3)测定其产酸性能。

[0040] (1) 同实施例2的步骤(1)。

[0041] (2) 同实施例2的步骤(2)。

[0042] (3) 取种子培养基稀释10倍后,在600nm下测定吸光度值,吸光度值为 0.62 ± 0.04 ;
取发酵液离心测定pH和乳酸含量,其中pH值为 4.10 ± 0.05 ,乳酸含量 $6.0 \pm 0.5\text{g/L}$ 。

[0043] 可见,本发明提供的植物乳杆菌EM-12具有较高的产酸性能,可以作为酸化剂添加
于饲料中。

[0044] 实施例3植物乳杆菌EM-12的保质、抗污染实验

[0045] (1) 制备非发酵原料混合物:以重量百分数计,将氨基酸2%、维生素0.5%、微量元素0.5%、食盐1.0%、石粉3.0%、磷酸二氢钙3.0%、白砂糖30%和超级蒸气鱼粉60%混合,并将其粉碎至粒度为1.0mm,制得非发酵原料混合物。

[0046] (2) 按照实施例2的步骤制备发酵液。

[0047] (3) 将发酵液和非发酵原料混合物按照重量百分数为70%、30%进行混合,获得发酵溶液。

[0048] (4) 采用塑料软包进行包装,采用食品行业通用的巴氏杀菌法进行灭菌,灭菌时间控制在60分钟。

[0049] (5) 保质、抗污染实验

[0050] ①将获得的发酵溶液倒入三角瓶中,并置敞口置于30℃的培养箱中;②将溶液倒入铝箔袋中,并热合封口,置于30℃培养箱中。其中,①中的料液保持72小时,无异味、pH无变化。②中的铝箔袋72小时无胀袋,无异味、pH无变化。

[0051] 对比实施例3植物乳杆菌标准株产酸的保质、抗污染实验

[0052] 取中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物菌种保藏中心植物乳杆菌标准株,按照实施例3的步骤(1)、(2)、(3)、(4)和(5)进行保质、抗污染实验。

[0053] (1)-(4)同实施例3的步骤(1)-(4)。

[0054] (5) 保质、抗污染实验

[0055] ①将获得的发酵溶液倒入三角瓶中,并置敞口置于30℃的培养箱中;②将溶液倒入铝箔袋中,并热合封口,置于30℃培养箱中。其中,①中的料液保持72小时,气味酸臭,pH显著下降。②中的铝箔袋72小时明显胀袋,气味酸臭、pH显著下降。

[0056] 可见,本发明提供的植物乳杆菌EM-12具有较好的保质、抗污染能力。

[0057] 需要说明的是,在另一个实施例中,所述非发酵原料混合物的制备包括以下步骤:以重量百分数计,将氨基酸3%、维生素0.4%、微量元素0.6%、食盐1.5%、石粉2.3%、磷酸二氢钙3.6%、白砂糖38.6%和超级蒸气鱼粉50%混合,并将其粉碎至粒度为1.2mm,制得非发酵原料混合物。

[0058] 实施例4发酵饲料的饲喂效果

[0059] 将上述方法制备的发酵饲料用于断奶仔猪的饲喂试验,随机选择100头健康、体重均匀的28日龄断奶仔猪,分为对照组和试验组,每组5个重复,每个重复10头,试验期14天。对照组饲喂粉料,试验组前4天饲喂发酵液态乳猪料,第5-7天逐渐过渡成与对照组相同的粉料,第8-14天饲喂与对照组相同的粉料。统计仔猪的体重和腹泻数据如下表。

[0060]

组别	仔猪数头	开始平均重 kg/头	结束平均重 kg/头	体增重 kg	腹泻率%
对照组	100	7.35	21.61	14.26	8.5
试验组	100	7.38	22.93	15.55	2.5

[0061] 由上表可知,饲喂液态料的仔猪较饲喂粉料的仔猪多增重9.0%(1.29kg),腹泻率降低70.6%。

[0062] 本发明能够显著提升畜禽的免疫力,改善肠道微生态环境,降低腹泻率。

[0063] 实施例5协同酵母的发酵情况

[0064] 发酵菌种的扩培:选用酵母菌和植物乳杆菌EM-12,分别经一级斜面培养、两级液体培养进行扩培,步骤如下:

[0065] (1) 一级斜面培养

[0066] 将乳杆菌转接于MRS培养基斜面上,于36℃培养24小时;将酿酒酵母转接于YPD培养基斜面上,于30℃培养20小时;

[0067] (2) 二级液体培养

[0068] 取步骤(1)得到的新鲜乳杆菌斜面接种于液体培养基中培养,用无菌封口膜封口,置于恒温培养箱中,36℃静置培养20h得到一级乳杆菌种子液,取一级种子液按5%的比例接种至二级种子培养基中,培养条件同一级种子,得到乳杆菌的种子液;

[0069] 取步骤(1)得到的新鲜酿酒酵母斜面转接至液体培养基中,30℃摇床培养18小时,得到一级酿酒酵母种子液,取一级种子液按5%接种于二级种子培养基中,培养条件同一级种子;得到酿酒酵母的种子液。

[0070] (3) 培养基的配制:

[0071] 取一定量的谷物原料粉碎至1.0mm,按料水重量比1:4的比例加水混合,将混合料液高温灭菌,并降温至36℃左右,获得发酵培养基。其中,所述灭菌条件为121℃灭菌,时间20分钟。所述谷物原料包括大米粉、黄豆粉和玉米粉,所述大米面、黄豆粉和小麦面粉的重量比为3:1:1。

[0072] (4) 分别取酿酒酵母的种子液、乳杆菌菌种的种子液,按总接种量4%的接种量接入同一发酵培养基。培养温度34℃,摇床转速200rpm。其中,酵母菌与乳杆菌接种体积比1:1。发酵20小时,酵母活菌数为 1.1×10^8 cfu/ml,乳杆菌活菌数 2.2×10^9 cfu/ml。

[0073] 在本实施例中,所述酵母菌为酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) Sa-10,已保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,CGMCC No.6120。

[0074] 对比实施例5

[0075] 将植物乳杆菌EM-12替换为中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物菌种保藏中心植物乳杆菌标准株,其他步骤同实施例5。发酵20小时,酵母活菌数为 0.8×10^8 cfu/ml,乳杆菌活菌数 1.8×10^9 cfu/ml。

[0076] 可见,该菌株在协同酵母类的益生菌进行发酵培养时具有更加优异生长性能,因此更加适合于与酵母类菌种的协同发酵,在制备多菌种混合发酵饲料时具有更有研发、使用潜力。

[0077] 本发明提供的菌种在生长、产酸、抑菌等方面表现出很好的性能,其发酵产品具有良好的饲喂效果。其代谢乳酸可抑制肠道病原菌生长,从而能够显著提升畜禽的免疫力,改善肠道微生态环境,降低发病率,并对消化率、产奶量等方面带来一定提升。

[0078] 所属领域的普通技术人员应当理解:以上任何实施例的讨论仅为示例性的,并非旨在暗示本公开的范围(包括权利要求)被限于这些例子;在本发明的思路下,以上实施例或者不同实施例中的技术特征之间也可以进行组合,步骤可以以任意顺序实现,并存在如上所述的本发明的不同方面的许多其它变化,为了简明它们没有在细节中提供。因此,凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何省略、修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的

保护范围之内。

[0001] 序列表

[0002] 16S rDNA序列测定结果:

[0003] GCGTGCTAATACATGCAGTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAG
TGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAAACCTGCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATA
CCGCATAACAACCTTGGACCGCATGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGT
ATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGG
GACTGAGACACGGCCAAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCA
ACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTT
AGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAA
GAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCT
GCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGC
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTA
AGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGG
GTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTG
ACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGA
TGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAAC
TCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACCCAAAGTCGGTGGGGTAACTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGTGA
CAGA

[0004] pheS基因序列测定结果:

[0005] GGCACAATTACAAGACGTGCTACTACGCACGCAGACGTCTGCTGATCAGCCGCGGTCACTTGAAAATC
ACGATTTTTCTAAAGGACCGCTGAAGGTCTTGTACCTGGCCGCGTTATCGGCGTGATACGGATGATGCAACCCAT
TCCCATCAATTTTCATCAAATTGAAGGGTTAGTCGTGGACAAGCATATTACGATGGCTGATTTGAAGGGCACCTTAAT
TCTGGTTGCCAAGACTTTGTTTGGCGATCAATTCGATGTTTCGGCTACGGCCAAGCTTCTTTCCATTACGGAACCAT
CCGTAGAAGCTGATGTAACCTGCTTTAATTGCAATGGCAAGGGCTGTGCAATCTGTAAGCAAACGGGTTGGATCGAA
GTACTGGGTGCCGGCATGGTTCACCCCCACGTGTTAGAAATGTCTGGCATTGATCCAGAAGAATATGGTGGTTTTGC
TTTCGGTCTAGGGA