



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114395490 A

(43) 申请公布日 2022.04.26

(21) 申请号 202210280411.5 *A23K 10/12* (2016.01)  
(22) 申请日 2022.03.22 *A23K 10/37* (2016.01)  
(83) 生物保藏信息 *C12R 1/645* (2006.01)  
CGMCC No.40045 2022.01.19 *C12R 1/685* (2006.01)  
CGMCC No.22465 2021.07.05

(71) 申请人 中国科学院天津工业生物技术研究所  
地址 300450 天津市滨海新区空港经济区西七道32号

(72) 发明人 吴信 高乐

(74) 专利代理机构 北京知文通达知识产权代理事务所(普通合伙) 16051  
代理人 欧阳石文

(51) Int. Cl.  
*C12N 1/14* (2006.01)

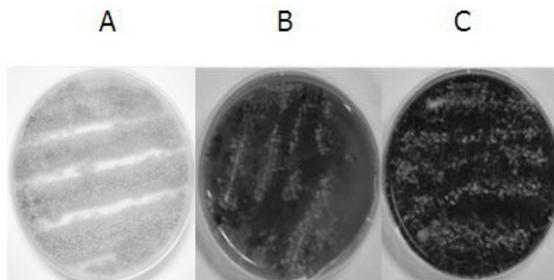
权利要求书1页 说明书5页  
序列表1页 附图1页

(54) 发明名称

一株粗糙脉孢菌及其在饲用蛋白开发的应用

(57) 摘要

本发明属于发酵粕类饲料及生产低值原料来源的单细胞蛋白应用技术领域,涉及一株粗糙脉孢菌及其混合应用。本发明采用粗糙脉孢菌是腐木微生物中分离得到的野生菌株,通过ARTP诱变方式,提升其降解生物质材料的能力,获得一株粗糙脉孢菌W3,粗糙脉孢菌W3在液态摇瓶发酵5d,其纤维素酶活力可以达到9.5IU/ml,木聚糖酶活力可以达到186.4IU/ml。本发明还提供粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW混合固态发酵生产单细胞蛋白的方法,大大提高了粕类饲料的品质和营养价值。因此本发明可产业化应用,具有较好的产业化前景。



1. 一种粗糙脉孢菌株 (*Neurospora crassa*) W3, 其保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏号为: CGMCC No. 40045, 保藏时间为: 2022年1月19日。
2. 如权利要求1所述的粗糙脉孢菌株W3在木质素降解中的应用, 其降解的底物是不溶性木质素或可溶性木质素。
3. 如权利要求2所述的应用, 其特征在于, 所述底物是棉粕、豆粕、花生粕或其混合物。
4. 一种用于单细胞蛋白生产的混合菌剂, 其包括如权利要求1所述的粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉60B-3DW; 其中黑曲霉60B-3DW保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏号为: CGMCC No. 22465。
5. 如权利要求4所述的混合菌剂, 其特征在于, 所述菌株以孢子粉或孢子悬液的形式存在。
6. 如权利要求5所述的混合菌剂, 其特征在于, 使用时孢子浓度 $10^6$ - $10^8$ 个/mL。
7. 一种生产饲用蛋白的方法, 其是以如权利要求1所述的粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 60B-3DW混合菌发酵木质素原材料得到饲用蛋白, 以及分离饲用蛋白的步骤; 其中黑曲霉60B-3DW保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏号为: CGMCC No. 22465。
8. 如权利要求7所述的方法, 其特征在于, 所述木质素原材料是秸秆类原材料, 粕类原材料, 或其混合物。
9. 如权利要求8所述的方法, 其特征在于, 所述秸秆类原材料是玉米秸秆、玉米芯、甘蔗渣及其混合物; 所述粕类原材料是豆粕, 棉粕, 花生粕或其混合物。
10. 如权利要求9所述的方法, 其特征在于, 是以豆粕、花生粕、棉粕分别按照80-95:7与麸皮混合做为发酵的底物, 且所述粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉60B-3DW接种量为5-15%, 且两者粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉60B-3DW添加比例为1-2:1-2, 含水量为50%-70%, 培养温度为28-32℃, 发酵60-90h。

## 一株粗糙脉孢菌及其在饲用蛋白开发的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于发酵粕类饲料及生产低值原料来源的单细胞蛋白应用技术领域,涉及一株粗糙脉孢菌及其混合应用。

### 背景技术

[0002] 我国蛋白质饲料原料供应不足与传统饲料原料利用率不高、浪费大的矛盾并存。一方面,我国蛋白质饲料自给率不足50%,国外进口的依存度超过80%，“人畜争粮”“受制于人”等情况日益严峻,畜禽养殖业作为我国农业的支柱产业,其转型升级的需求非常迫切;利用生物合成技术将农业废弃物转化为非常规蛋白原料,颠覆传统农业蛋白生产模式。低值原料来源的饲料蛋白在蛋白利用率、营养功能、综合成本等多方面可以与豆粕类饲料蛋白竞争,实现传统农业蛋白替代。

[0003] 另一方面,现有的蛋白饲料资源利用率不高,主要原因是当前产业中蛋白的处理技术低下,造成大量蛋白浪费。粕类是榨油后的副产物,是最重要的饲料蛋白资源。常见的有豆粕,棉粕,花生粕等,含有丰富的蛋白质,氨基酸分布合理,是动物日粮中常用的植物性蛋白质原料。但粕类饲用蛋白资源中粗纤维含量较高,存在木聚糖、纤维素、 $\beta$ -葡聚糖等抗营养因子,干扰日粮营养的消化吸收,降低饲料营养价值,导致饲料蛋白原料利用率下降、动物患病率高等问题。并且粕类饲料蛋白的氨基酸组成不如动物源性蛋白质饲料理想。利用高效利用低值原料的饲用菌株混合发酵粕类是改善粕类蛋白质饲料质量,挖掘植物性蛋白质饲料深层次利用潜能的有效途径。

### 发明内容

[0004] 本发明采用粗糙脉孢菌是自然界腐木微生物中分离得到野生粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)菌株,通过ARTP诱变方式提升其降解生物质材料的能力,获得粗糙脉孢菌诱变株W3。以不溶性/可溶性木质素为唯一碳源,粗糙脉孢菌W3均可以正常生长。利用特定的粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW两株菌混合发酵粕类蛋白和低值生物质原料生产单细胞蛋白,从饲用蛋白资源“开源”“节流”两个方面,提升现有粕类饲料蛋白利用率,开发低值原料来源的新型饲料蛋白,是缓解我国饲用资源不足的重要途径。

[0005] 本发明首先提供一种粗糙脉孢菌株(*Neurospora crassa*)W3,其保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏号为:CGMCC No. 40045,保藏时间为:2022年1月19日。

[0006] 进而提供所述的粗糙脉孢菌株W3在木质素降解中的应用,其降解的底物是不溶性木质素或可溶性木质素。具体实施方式中,所述底物是棉粕、豆粕、花生粕或其混合物。

[0007] 本发明还提供一种用于单细胞蛋白生产的混合菌剂,其包括所述的粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉(*Aspergillus niger*)60B-3DW,其中黑曲霉60B-3DW保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏号为:CGMCC No.22465(该菌株由中国科学院微生物研究所普通菌种保藏中心提供的黑曲霉3.316诱变得到的)。优选地,所述菌株以孢子粉或孢子

悬液的形式存在。进一步优选地,使用时孢子浓度 $10^6$ - $10^8$ 个/mL。

[0008] 本发明进一步提供一种生产饲用蛋白的方法,其是以所述的粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉60B-3DW混合菌发酵木质素原材料得到饲用蛋白。进一步地,还包括分离饲用蛋白的步骤。具体地,所述木质素原材料是秸秆类原材料,粕类原材料,或其混合物。更具体地,所述秸秆类原材料是玉米秸秆、玉米芯、甘蔗渣及其混合物;所述粕类原材料是豆粕,棉粕,花生粕或其混合物。

[0009] 在一个具体实施方式中,是以豆粕、花生粕、棉粕分别按照80-95:7与麸皮混合做为发酵的底物,且所述粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉60B-3DW接种量为5-15%,且两者粗糙脉孢菌株W3和黑曲霉60B-3DW添加比例为1-2:1-2(优选为1:1),含水量为50%-70%,培养温度为28-32℃,发酵60-90h。

[0010] 本发明采用粗糙脉孢菌是自然界腐木微生物中分离得到野生菌株,通过ARTP诱变方式提升其降解生物质材料的能力,获得粗糙脉孢菌诱变株W3。以不溶性/可溶性木质素为唯一碳源,粗糙脉孢菌W3均可以正常生长,说明这株菌具有木质素强降解能力。粗糙脉孢菌W3在液态摇瓶发酵5d,其纤维素酶活力可以达到9.8 IU/ml,木聚糖酶活力可以达到186 IU/ml,说明这株菌对纤维素和半纤维素有强降解能力;通过粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW混合固态发酵72h后,粕类蛋白粗蛋白含量提升12%,必需氨基酸比例也均提升5.42-6.57%,大大提高了粕类产品的营养价值。以低值原料(甘蔗渣、玉米秸秆、玉米芯)为底物,本发明经过特定的粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW混合发酵后,单细胞蛋白中粗蛋白含量均超过26%,氨基酸含量均超过20%,实现农业废弃物资源变废为宝,颠覆传统农业蛋白生产模式,促进我国蛋白原料的自给自足,实现我国循环经济和农业可持续发展的重要途径。同时精准解决我国农业废弃物资源化利用率低、传统农业蛋白短缺两大难题,提升我国农业的综合生产力和竞争力,具有重要的战略意义。

[0011] 本发明公开了粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*) W3,其被保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏号为:CGMCC No.40045,保藏时间为:2022年1月19日;黑曲霉菌株60B-3DW,其分类命名:黑曲霉*Aspergillus niger*,菌株黑曲霉(*Aspergillus niger*) 60B-3DW被保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏号为:CGMCC No.22465,保藏时间为:2021年07月05日,保藏单位地址为: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。

## 附图说明

[0012] 图1不同ARTP诱变时间后粗糙脉孢菌在平板上的生长情况。

[0013] 图 2粗糙脉孢菌W3在不同培养基上生长情况。其中,A为PDA平板,B为可溶性木质素为唯一碳源,C为不溶性木质素为唯一碳源。

## 具体实施方式

[0014] 下面通过具体实施例对本发明作进一步的阐述,以便更好的理解本发明,但并不构成对本发明的限制。

[0015] 实施例1:粗糙脉孢菌W3的获得

1、野生型粗糙脉孢菌的获得

2021年05月在河北省唐山市采集腐木微生物中分离获得。

[0016] 分离过程:刮取腐木微生物,放入盛有95 mL无菌水和10粒玻璃珠的三角瓶中,于30℃、180 rpm振荡30 min。取菌悬液1 mL进行 $10^{-1}$  -  $10^{-7}$  系列浓度梯度稀释,然后取 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 三个稀释度涂布至合成PDA培养基的平板上,于28℃倒置培养4d。

[0017] 纯化:菌落在以木质素为唯一碳源的培养基平板形成后,选取生长速度最快的一株菌,挑取单菌落边缘处的菌丝于PDA培养基平板上,继续28℃恒温培养,直至获得一株粗糙脉孢菌纯菌落,将获得菌落4℃保存。

[0018] 对该菌株进行鉴定,其中18s测序序列结果如下:

```

1 tcaaagatta agccatgcat gtctaagttt aagcaattaa acccgaaac tgcgaatggc
61 tcattaaatc agttatagtt tatttgatag taccttacta catggataac cgtgtaatt
121 ctagagctaa tacatgctaa aaaccccgac ttcggaaggg gtgtatttat tagattaaaa
181 accaatgccc ttcggggcta actgggtgatt cataataact tctcgaatcg catggccttg
241 cgctggcgat ggttcattca aatttctgcc ctatcaactt tcgacggctg ggtcttggcc
301 agccatggtg acaacgggta acggagggtt agggctcgac cccggagaag gagcctgaga
361 aacggctact acatccaagg aaggcagcag gcgcgcaaat tacccaatcc cgacacgggg
421 aggtagtac aataaatact gatacagggc tcttttgggt cttgtaattg gaatgagtac
481 aatttaaatc ccttaacgag gaacaattgg agggcaagtc tggtgccagc agccgcgta
541 attccagctc caatagcgta tattaagtt gttgaggtta aaaagctcgt agttgaacct
601 tgggctcggc ccgctcggcc gcctcaccgc gtgactgac tgggtcgggc ctttttctc
661 ggagaaccgc atgcccttca ctgggtgtgt cggggaacca ggacttttac cgtgaacaaa
721 tcagatcgct caaagaaggc ctatgctcga atgtactagc atggaataat agaataggac
781 gtgtggttct attttgttg tttctaggac cgccgtaatg attaataggg acagtcgggg
841 gcatcagtat tcaattgtca gaggtgaaat tcttggattt attgaagact aactactgcg
901 aaagcatttg ccaagatgt tttcattaat caggaacgaa agttagggga tcgaagacga
961 tcagataaccg tcgtagtctt aaccataaac tatgccgatt agggatcgga cgggtttatt
1021 ttttgaccgg ttcggcacct tacgataaat caaaatgttt gggctcctgg gggagtatgg
1081 tcgcaaggct gaaacttaaa gaaattgacg gaagggcacc accaggggtg gagcctcggg
1141 cttaatatga ctcaacacgg gaaactcac caggtccaga cacgatgagg attgacagat
1201 tgagagctct ttcttgattt cgtgggtggt ggtgcatggc cgttcttagt tgggtggagt
1261 atttgtctgc ttaattgcga taacgaacga gaccttaacc tgctaaatag cccgtattgc
1321 tttggcagta cgctggcttc ttagaggac tatcggtca agccgatgga agttttaggc
1381 aataacaggt ctgtgatgcc cttagatggt ctgggccgca cgcgcgtac actgacacag
1441 ccagcgagta ctcccttggc cggaaggtcc gggtaatctt gttaaactgt gtcgtgctgg
1501 ggatagagca ttgcaattat tgctcttcaa cgaggaatcc ctagtaagcg caagtcatca
1561 gcttgcggtg attacgtccc tgcccttgt acacaccgcc cgtcgtact accgattgaa
1621 tggctcagtg aggcttccgg actggcccag ggaggtcggc aacgaccacc caggcccgga
1681 aagctatcca aactcgtgta ttagaggaa gtaaaagtcg taacaaggt.

```

[0019] 结果显示该菌18s序列与粗糙脉孢菌*Neurospora crassa* OR74A相似度达到100%,表明属于粗糙脉孢菌。

[0020] 2、ARTP诱变及分选获得粗糙脉孢菌W3:

a. 诱变时间确定:采用100 $\mu$ l新鲜的粗糙脉孢菌孢子悬液,孢子浓度为 $10^5$ ,诱变不同时间。当诱变设置0s,60 s,90 s,120 s,150 s的诱变时间,分别涂板统计每个诱变时间的致死率,以

70%致死率为理想诱变时间(0s情况作为对照,如图1所示);

通过对新鲜孢子经过ARTP 诱变不同时间后,每个诱变时间涂3个平板,30℃培养24-36h后,统计每个诱导时间的菌落数计数后发现,粗糙脉孢菌诱导60s可达70%诱变致死率。

[0021] b. 诱变后菌落孔板法评价:诱变后菌落挑入24孔板内,30℃、130 rpm培养1d,测定其OD600判断诱变后菌落生长速度。挑选生长速度最快的那一个单菌落作为后研究的菌株(编号W3),将获得菌落4℃保存。

[0022] 实施例2:粗糙脉孢菌W3的生长或发酵特性

以不溶性木质素/可溶性木质素为唯一碳源时,粗糙脉孢菌W3均可以正常生长,说明该菌株具有木质素强降解能力(如图2所示平板);

发酵培养基:微晶纤维素33g/L,玉米浆干粉17 g/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.60~1.72 g/L,(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.6~3.0 g/L和MgSO<sub>4</sub> 0.4~0.8 g/L。24℃~28℃,pH4.8~5.2,转速250~300 rpm,培养5d。

[0023] 粗糙脉孢菌在液态摇瓶发酵5d,其纤维素酶活力可以达到6.5 IU/ml,木聚糖酶活力可以达到186.4 IU/ml;与初始粗糙脉孢菌野生株相比,粗糙脉孢菌W3纤维素酶和木聚糖酶活力分别提高3.5倍和12.4倍,说明这株诱变菌株具有纤维素和半纤维素的强降解能力;

菌株	纤维素酶活力	木聚糖酶活力
粗糙脉孢菌野生株	2.1	13.9
粗糙脉孢菌W3	9.5	186.4

[0024] 实施例3:发酵粕类饲用蛋白方面的应用

种子培养基: YPD培养基:1%葡萄糖,2%蛋白胨,1%酵母粉。

[0025] 分别从粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW的平板上洗下孢子悬液浓度10<sup>7</sup>个/mL,加入种子培养基,培养温度为26℃~28℃,转速180~200 rpm,培养24h。

[0026] 将豆粕、花生粕、棉粕分别按照93:7与麸皮混合做为发酵的底物,米曲霉和粗糙脉孢菌接种量为10%(粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW添加比例为1:1),含水量为60%,培养温度为30℃,发酵72h。

[0027] 发酵前后的粕类材料分别测定粗蛋白质含量、氨基酸含量。

[0028] 粗蛋白质GB/T 6432-1994《饲料中粗蛋白的测定方法》。氨基酸含量测定采用A200型amino Nova氨基酸分析仪参照中华人民共和国国家标准GB/T 18246-2000《饲料中氨基酸的测定》进行测定。

[0029] 从下表结果显示,通过粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW混合固态发酵72h后,棉粕、豆粕、花生粕的粗蛋白含量分别提升了12.01%、14.47%、12.28%,比单独采用粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW的效果均明显的要好。

粗蛋白含量	处理前 (%)	处理后 (%) 粗糙脉孢菌 W3	处理后 (%) 黑曲霉 60B-3DW	处理后 (%) 粗糙脉孢菌 W3 和 黑曲霉 60B-3DW	提高比例 (%)
棉粕	46.33	51.32	52.41	58.34	12.01
豆粕	42.65	49.89	49.23	57.12	14.47
花生粕	47.51	51.19	50.98	59.79	12.28

[0030] 进一步从下表结果显示,通过饲用菌株混合固态发酵72h,粕类饲用蛋白的必须氨基酸比例均提高5.42-6.57%,棉粕必需氨基酸比例由29.86%提升到36.43%;豆粕必需氨基酸比例由36.46%提高到41.88%;花生粕必需氨基酸比例由26.73%提高到32.98%,大大提高了粕类饲用蛋白产品的品质和营养价值。

		Asp	Thr*	Ser	Glu	Gly	Ala	Val*	Met*	Ile*	Leu*	Tyr	Phe*	Lys*	His	Arg	Cys	Pro	Trp*	总
棉粕	前	4.32	1.25	0.98	10.11	2.32	1.72	1.91	0.58	1.29	2.47	1.05	2.28	1.97	1.19	4.65	0.68	1.78	0.51	41.06
	后	5.32	1.84	1.07	13.16	2.52	1.88	2.86	1.25	1.88	3.59	1.24	2.99	4.47	1.23	4.97	0.79	2.04	0.73	53.83
豆粕	前	4.51	1.70	0.60	10.21	2.51	1.61	2.09	0.65	2.50	3.41	1.47	2.21	2.90	1.12	3.43	0.67	1.81	0.57	43.97
	后	5.32	2.19	1.41	12.11	2.89	1.81	3.42	1.47	3.82	5.28	1.71	3.13	4.12	1.91	3.48	0.89	2.13	0.82	57.91
花生粕	前	4.79	1.17	2.24	8.80	2.44	1.69	1.61	0.39	1.18	2.61	1.39	1.98	1.30	0.98	4.79	0.42	1.66	0.41	39.85
	后	5.45	1.52	2.91	10.92	2.64	1.98	2.34	1.31	2.57	3.91	2.15	3.04	2.04	1.59	5.41	0.68	1.98	0.84	53.28

[0031] 实施例5：低值原料开发饲用蛋白产品

粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW孢子液：取粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW孢子分别划线PDA平板于30℃培养一段时间，之后用无菌水洗脱孢子，然后用细胞过滤器过滤掉菌丝，再用血球计数板计数，确定孢子浓度，最后调整的孢子浓度均为 $1-1.2 \times 10^8$ 个/mL，得到孢子液。

[0032] 分别取低值原料(玉米秸秆、玉米芯、甘蔗渣)，按照料水比1:2.5加入水，作为固态发酵的培养基。粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW孢子液均分别按照接种量5%添加至固态发酵的培养基表面，30℃下培养24-36小时。粗糙脉孢菌W3可以在胞外分泌纤维素酶和半纤维素酶，黑曲霉60B-3DW可以胞外分泌β-葡萄糖苷酶，两种酶系相互协同，高效降解玉米秸秆的纤维素转化为菌体可以利用的可发酵糖。粗糙脉孢菌W3和黑曲霉60B-3DW可以高效利用可发酵糖转化为菌体蛋白；粗糙脉孢菌W3可以高效利用木质素，加快秸秆全组分的利用效率。于固态发酵7天取发酵后材料烘干后，测定固体总氮含量。按照粗蛋白=固体总氮含量\*6.25，计算发酵后低值原料来源的粗蛋白含量。结果显示，发酵7天后发酵后低值原料来源的粗蛋白含量约在26%以上，真蛋白含量(氨基酸含量)均在20%以上。

材料	玉米秸秆	甘蔗渣	玉米芯
总氮含量(%)	4.63	4.23	4.51
粗蛋白含量(%)	28.94	26.44	28.19
氨基酸含量(%)	22.01	20.71	21.43

[0033] 本发明中从饲料蛋白资源“开源”、“节流”两个角度，提升现有饲料蛋白资源的利用率，开发新型饲料蛋白资源，缓解我国饲用蛋白资源短缺的现状。粕类蛋白是我国最常用的饲用蛋白资源，经过特定的米曲霉和粗糙脉孢菌混合发酵后，粕类蛋白粗蛋白含量提升12%，必需氨基酸比例也均提升5.42-6.57%，大大提高了粕类产品的营养价值。本发明可产业化应用，具有较好的产业化前景。低值原料包括甘蔗渣，玉米秸秆，玉米芯为底物，本发明经过特定的米曲霉和粗糙脉孢菌混合发酵后，单细胞蛋白中粗蛋白含量均超过26%，氨基酸含量均超过20%，实现农业废弃物资源变废为宝，颠覆传统农业蛋白生产模式，促进我国蛋白原料的自给自足，实现我国循环经济和农业可持续发展的重要途径。同时精准解决我国农业废弃物资源化利用率低、传统农业蛋白短缺两大难题，提升我国农业的综合生产力和竞争力，具有重要的战略意义。

- <110> 中国科学院天津工业生物技术研究所  
<120> 一株粗糙脉孢菌及其在饲用蛋白开发的应用  
<160> 1  
<210> 1  
<211> 1729  
<212> DNA  
<213> *Neurospora crassa*  
<400> 1

tcaaagattaagccatgcatgtctaagtttaagcaattaaccgcgaaactgcgaatggctcattaaatcag  
ttatagttttatttgatagtagtacctactacatggataaccgtggtaattctagagctaatacatgctaaaaaccccg  
acttcggaaggggtgtatttatttagattaaaaaccaatgcccttcggggctaactggtgattcataataacttctc  
gaatcgcatggccttgcgctggcgatggttcattcaaatttctgccctatcaacttctgacggctgggtccttgccc  
agccatggtgacaacgggtaacggagggttagggctcgaccccgagaaggagcctgagaaacggctactacatcc  
aaggaaggcagcaggcgcgcaaattaccaatcccgcacacggggaggtagtgacaataaatactgatacagggtc  
ttttgggtccttgtaattggaatgagtacaatttaaatcccttaacgaggaacaattggagggaagctctggtgcc  
gcagccgcggttaattccagctccaatagcgtatattaaagtgttgagggttaaaaagctcgtagttgaaccttggg  
ctcggcccgtcgggtccgctcaccgctgcactgactgggtcgggccttttttctggagaaccgcatgcccttca  
ctgggtgtgtcggggaaccaggacttttaccgtgaacaaatcagatcgctcaaagaaggcctatgctcgaatgtac  
tagcatggaataatagaataggacgtgtggttctattttgttggtttctaggaccgccgtaatgattaataggac  
agtcgggggcatcagtattcaattgtcagaggtgaaattcttgatttattgaagactaactactgcgaaagcatt  
tgccaaggatgttttcattaatcaggaacgaaagttaggggatcgaagacgatcagataccgctcgtagcttaacc  
ataaactatgccgattagggatcggacggtgttatttttgaccgcttcggcaccttacgataaatcaaatgttt  
gggctcctgggggagtatggtcgcaaggctgaaacttaagaaattgacggaagggcaccaccagggtggagcct  
gcggttaatttgactcaacacggggaactcaccaggtccagacacgatgaggattgacagattgagagctcttt  
cttgatttcgtgggtggtggtgcatggcgttcttagttggtggagtgatttgtctgcttaattgcgataacgaac  
gagaccttaacctgctaaaatagcccgtattgctttggcagtagcctggcttcttagagggactatcggctcaagcc  
gatggaagtttgaggcaataacaggtctgtgatgcccttagatgttctggccgcacgcgctacactgacacag  
ccagcgagtactcccttggccggaaggtccgggtaatcttggttaaactgtgtcgtgctggggatagagcattgcaa  
ttattgctcttcaacgaggaatccctagtaagcgcaagtcacagcttgcgttgattacgtccctgccctttgtac  
acaccgcccgtcgtactaccgattgaatggctcagtgaggcttccggactggcccaggagggtcggcaacgacca  
cccagggccggaagctatccaaactcgggtcatttagaggaagtaaaaagtcgtaacaaggt 1729

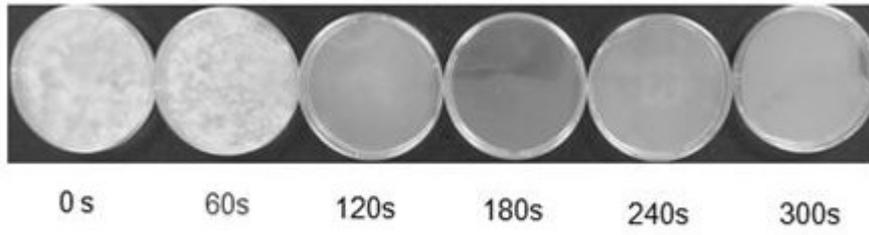


图1

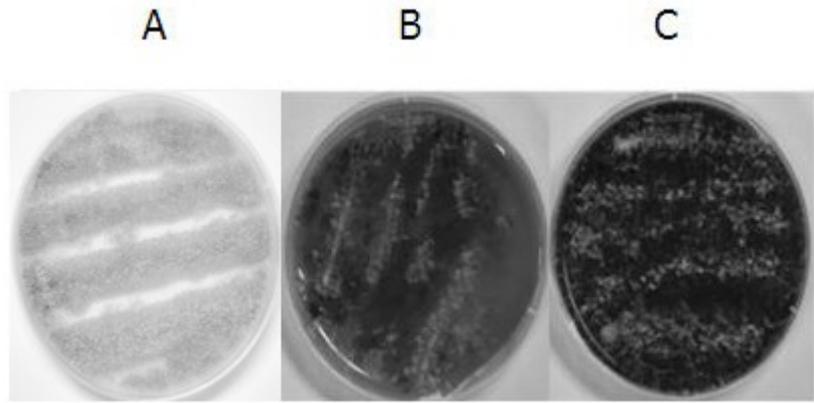


图2