



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102396346 A

(43) 申请公布日 2012.04.04

(21) 申请号 201110265993.1

(22) 申请日 2010.02.09

(62) 分案原申请数据

201010109627.2 2010.02.09

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 3536 2009.12.23

(71) 申请人 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所

地址 100081 北京市海淀区中关村南大街
12号

(72) 发明人 张金霞 黄晨阳 陈强 高巍

(74) 专利代理机构 北京众合诚成知识产权代理有限公司 11246

代理人 胡长远

(51) Int. Cl.

A01G 1/04 (2006.01)

C05G 1/00 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页
序列表 4 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种猴头菇

(57) 摘要

本发明公开了一种猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 中农猴头 1, 利用本发明培养方法所得的猴头菇中农猴头 1 的菌丝体生物产量高, 可达 12g/L, 是目前工厂发酵生产水平的 2 倍以上; 其次本发明猴头菌菌株中农猴头 1 生长速度快, 可达 5.8mm/d, 且产量高。

1. 一种猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 菌株中农猴头 1, 已于 2009 年 12 月 23 日在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏, 保藏编号为 :CGMCC 3536。

一种猴头菇

[0001] 本发明是申请号为 :201010109627.2、申请日为 :2010.2.9、发明名称为“猴头菇的液体深层发酵培养方法”专利申请的分案申请。

技术领域 :

[0002] 本发明属于食用菌的培养方法,具体涉及猴头菇的液体深层发酵培养方法,还涉及发酵培养用的培养基。还涉及一种猴头菌。

背景技术 :

[0003] 猴头菌 (*Hericium erinaceus*), 因子实体形状酷似小猴子的头而得名。又称猴头菇、猴头蘑、猴菌、对口蘑、喝巴拉 (藏名)、山伏菌 (日本) 和熊头苗 (欧洲)。(吕作舟, 食用菌栽培学, 高等教育出版社, 2006 年, P262)。猴头菌是一种兼有食用和药用价值的名贵食用菌, 猴头菇多糖能明显抑制胃、食管、肝、皮肤癌的生长, (Mizuno, T. International Journal of Medicinal Mushrooms 1, 1999. p105-119.) 它的主要活性成分有三种: β -D- 葡聚糖, 具有抗肿瘤功效; 麦角固醇, 是维生素 D 的前体物质; Cyathane 衍生物, 是一种神经生长刺激因子。(Smith 等. cancer research UK. 2002. p41-42)。

[0004] 猴头菌的生产途径主要有三种: 一、人工栽培, 其优点是简单易行, 成本低。其缺点是栽培周期长, 整个生产周期约 3 个月。(张金霞, 食用菌安全优质生产技术, 中国农业出版社, 2004, p191-201); 二、固体发酵, 用固体培养基培养猴头菌菌丝体, 以获得次生代谢产物。菌丝长满培养基约需 30 天, 继续培养 10 天左右, pH 降至 4 左右开启棉塞, 挖出菌质, 晒干供提取用。它的优点: ①培养基简单且来源广泛, 价格便宜; ②发酵过程一般不需要严格的无菌操作; ③培养过程供氧和温度可以采用直接空气强制通风来控制; ④发酵残渣的处理简单, 可直接作为饲料或肥料。但其缺点明显: ①培养基水分活度低, 培养基不均匀且不易搅拌, 菌体的生长、对营养物质的吸收和代谢产物的分泌都不均匀, 使得发酵参数的检测和控制困难, 也使得连续操作和自动化很困难; ②微生物呼吸和代谢所产生热量的温度控制非常困难, 因为固体培养基的热传导性差; ③由于对影响固态的因素了解不够, 培养方法大多基于经验数据和操作的经验, 与液体深层发酵相比, 劳动强度大, 占地面积大, 易污染杂菌。三、液体深层发酵, 最早报道于 20 世纪 80 年代末, 研究内容包括营养需要、环境因子、发酵工艺等, 以获得最佳操作条件在较短时间内生产大量的菌丝体与代谢产物。优点: ①可以进行工业化连续生产, 通过控制最佳条件来培养菌丝体, 生产工艺规范; ②培养原料来源广泛, 价格便宜; ③通过控制发酵罐的通气搅拌系统、温度调节系统、pH 值调节系统和培养基补给系统等装置, 培养条件最佳, 发酵周期短, 生产效率高。(杨海龙等. 药用真菌深层发酵生产技术, 化学工业出版社, 2009 年, p14-17, p212), 但是目前的液体深层发酵方法 (李宇伟等. 猴头菌液体培养产多糖条件优化的研究, 食用菌, 2008 (3), p15-16) 菌丝体生物量在 6g/L 左右, 产量较低, 因此亟须筛选新的猴头菌菌株以及菌丝体产量高的发酵培养方法。

发明内容

[0005] 本发明目的在于解决猴头菇生产方法中存在的菌丝体生物产量低的问题,提供一种猴头菇的液体深层发酵培养方法。

[0006] 本发明第二目的是提供一种猴头菇液体深层发酵用的液体种子培养基。

[0007] 本发明第三目的是提供一种猴头菇液体深层发酵用的液体发酵培养基。

[0008] 本发明第四目的是提供一个猴头菇菌株。

[0009] 为实现上述目的,本发明的技术方案为:

[0010] 猴头菇的液体深层发酵培养方法,包括如下步骤:

[0011] (1) 菌种活化:按照3~5%的重量比将猴头菇菌种接种于斜面培养基上,在22~26℃下培养12~16d,得活化的猴头菇菌种;所述的斜面培养基的组成成份及其含量为:马铃薯(取汁)180~220g/L,葡萄糖18~22g/L,琼脂15~20g/L,其余为水;

[0012] (2) 一级菌种培养:接取活化的猴头菇菌种,捣碎,按照3~6g/L的比例将活化的猴头菇菌种接种于液体种子培养基中,在22~26℃、转速为120~180rpm条件下培养4~7d,得一级菌种;所述的液体种子培养基的组成成份及其重量比为:葡萄糖1~3%、玉米淀粉0.01~0.1%、麦麸0.1~0.5%、蛋白胨0.1~0.3%、酵母粉0.2~0.4%、 KH_2PO_4 0.05~0.2%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01~0.1%、 VB_1 为8~15mg/L,其余为水;

[0013] (3) 二级菌种培养:按照8~15%的体积比将步骤(2)所得一级菌种接种于液体发酵培养基中,在24~28℃、压力为0.05MPa、通风量为每分钟罐容积的50~100%条件下培养3~6d,得二级菌种;所述液体发酵培养基的组成成份及其含量为:葡萄糖20~30g/L,玉米淀粉0.05~0.2g/L,酵母粉2~4g/L,蛋白胨2~4g/L,麦麸0.5~1.5g/L, KH_2PO_4 1.0g/L, MgSO_4 0.5g/L,其余为水;

[0014] (4) 发酵罐放大培养:按照8~15%的体积比将二级菌种接种于液体发酵培养基中,在24~28℃、压力为0.05MPa、通风量为每分钟罐容积的50~100%条件下培养6~10d,得猴头菇菌丝体;所述的液体发酵培养基的组成成份及其含量同步骤(3)。

[0015] 上述发酵培养方法中所述的猴头菇菌种可以是通常生产上所用的猴头菇(*Hericium erinaceus*)菌种、或者所采集的野生猴头菇(*Hericium erinaceus*)菌种。

[0016] 上述发酵培养方法中所述的猴头菇菌种是指猴头菌(*Hericium erinaceus*)中农猴头1,已于2009年12月23日在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏,保藏编号为:CGMCC 3536。

[0017] 上述发酵培养方法步骤(1)中所得的猴头菇菌种的大小为3-5×3-5mm。

[0018] 上述发酵培养方法步骤(2)中所述的液体种子培养基的装液量为罐容积的40%。

[0019] 上述发酵培养方法步骤(3)或(4)中所述的液体发酵培养基的罐装液量为罐容积的60~80%。

[0020] 所述的液体种子培养基的制备方法,包括按照上述重量比将为葡萄糖、玉米淀粉、麦麸、蛋白胨、酵母粉、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 VB_1 加入水中,搅拌均匀,然后用水定容,再在121℃,灭菌30min即可。

[0021] 所述的液体发酵培养基的制备方法,包括按照上述重量比将葡萄糖、玉米淀粉、酵母粉、蛋白胨、麦麸、 KH_2PO_4 和 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 加入水中,搅拌均匀,然后用水定容,在121℃,灭菌30min即可。

[0022] 本发明所得的猴头菇菌丝体可用于生产保健食品、食品添加剂、饮料等。

[0023] 本发明中所述的猴头菌、猴头菇、猴头蘑、猥菌、对口蘑、喝巴拉（藏名）、山伏菌（日本）和熊头苗（欧洲）等名称都是指猴头菌（*Hericium erinaceus*）。

[0024] 本发明具有的优点：(1)、本发明方法猴头菌菌丝体生物产量高，可达 12g/L，是目前工厂发酵生产水平的 2 倍以上。(2) 本发明猴头菌菌株中农猴头 1 生长速度快，可达 5.8mm/d；(3) 本发明提供的种子和发酵培养基效果好，可使猴头菇菌丝体产量高。

附图说明

[0025] 图 1 8 个猴头菇菌株菌丝体生物量、胞外多糖的利率、胞内多糖含量对比柱形图。

[0026] 图 2 中农猴头 1 的 rDNA-IGS2 区域 PCR 扩增片段电泳图谱。

具体实施方式

[0027] 实施例 1 猴头菌菌株中农猴头 1 的筛选

[0028] 以 32 个猴头菌株（3 个来自中国农业科学院农业资源与农业区划研究所；4 个来自中国农业科学院蔬菜花卉研究所；其它引自上海农科院食用菌所、福建三明真菌研究所、吉林省、江苏省等地（具体地点不可知），所述的 32 个猴头菌株均为野生种）为材料，在 Difco PDA™ 培养基（一种标准培养基，德国生产）上 $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 培养 7 天，测量菌落直径，菌丝生长速度 = 菌落直径 / 7d，结果（见表 1）显示由中国农业科学院农业资源与农业区划研究所采自东北长白山的第 18 号菌株生长速度最快，说明它的活力比较强。将 18 号菌株与其它 7 个菌株进行液体摇瓶培养，测定它们的菌丝体生物量、胞外多糖的利率、胞内多糖的含量等，结果（见图 1）这三项指标综合评价最优的是第 18 号菌株，将 18 号菌株定名为中农猴头 1。

[0029] 表 1 猴头菌 32 个菌株的菌丝生长速度

[0030]

菌株号	菌丝生长速度(mm/d)	菌株号	菌丝生长速度(mm/d)	菌株号	菌丝生长速度(mm/d)	菌株号	菌丝生长速度(mm/d)
1	4.2	9	4.8	17	4.9	25	3.7
2	3.3	10	4.8	18	5.8	26	5.4
3	3.3	11	5.1	19	4.7	27	4.8
4	4.0	12	4.5	20	5.5	28	4.1
5	4.9	13	4.4	21	2.6	29	5.5
6	4.4	14	3.1	22	4.3	30	4.1
7	4.3	15	4.8	23	3.8	31	3.8
8	4.1	16	4.5	24	4.2	32	2.4

[0031]

[0032] 实施例 2 猴头菌菌株中农猴头 1 的鉴定

[0033] 将实施例 1 中所筛选出来的第 18 号猴头菌菌株即“中农猴头 1”进行鉴定，其形态特征为：菌丝洁白浓密，菌丝适宜在 pH4 ~ 5，温度为 24 ~ 26℃ 条件下生长，在 25℃ 时在 Difco PDA 培养基（一种标准培养基，德国生产）上菌丝生长速度为 5.8mm/d。“中农猴头

1”是中温偏低出菇型品种,优质、高产、抗逆性强。出菇期适宜温度为 10 ~ 22℃,最适温度为 17±1℃。子实体单生,纯白色;子实体直径 10cm ~ 30cm,中实;菌柄长 2 ~ 4cm,菌刺长度 2 ~ 5cm。

[0034] ITS 序列测序

[0035] 采用 CTAB 法提取中农猴头 1 的总 DNA,以总 DNA 为模板,以下述序列为引物进行 PCR 扩增,所述的引物为:

[0036] ITS1 :5` TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3` (SEQID No :3)

[0037] ITS4 :5` CCTCCGCTTATTGATATGC 3` (SEQID No :4);

[0038] PCR 反应体系:Ex Taq(5U/μL)0.25 μL, dNTPs(各 2.5mmol)4 μL, 10×buffer(Mg²⁺)5 μL, ITS1 引物和 ITS4 引物各 2 μL,模板 DNA 5 μL, ddH₂O31.75 μL。PCR 反应条件:94℃ 5min;94℃ 40s,56℃ 40s,72℃ 80s,35 个循环;72℃ 10min。扩增得到 ITS-PCR 产物 ITS1-5.8S-ITS2 序列,由上海生工生物工程技术服务有限公司克隆测序,3 个克隆已在 GenBank 上登录,登录号分别是 GU566756(第 1-30 个碱基是 18S rRNA 基因部分序列,31-210 个碱基是 ITS1 序列,第 211-368 个碱基是 5.8S rRNA 基因序列,369-572 个碱基是 ITS2 序列,573-631 个碱基是 28S rRNA 基因部分序列)(SEQID No :5)、GU566757(第 1-30 个碱基是 18S rRNA 基因部分序列,31-210 个碱基是 ITS1 序列,第 211-368 个碱基是 5.8S rRNA 基因序列,369-571 个碱基是 ITS2 序列,572-631 个碱基是 28S rRNA 基因部分序列)(SEQID No :6)、GU566758(第 1-30 个碱基是 18S rRNA 基因部分序列,31-210 个碱基是 ITS1 序列,第 211-368 个碱基是 5.8S rRNA 基因序列,369-571 个碱基是 ITS2 序列,572-631 个碱基是 28S 基因 rRNA 部分序列)(SEQID No :7)。经和 GenBank 数据库猴头菇序列对比,相似度为 99%以上,说明中农猴头 1 属于猴头菇 (*Hericium erinaceus*)。

[0039] IGS2(Intergenic spacer 2 的简写)序列 PCR 扩增检测:

[0040] 以中农猴头 1 的总 DNA 为模板,以下述序列为引物 PCR 扩增 rDNA-IGS2 区域,所述的引物序列为:

[0041] 5SRNAR :5` ACCGCATCCCGTCTGAT 3` (SEQID No :1)

[0042] invSR1R :5` ACTGGCAGAATCAACCAGGTA 3` (SEQID No :2);

[0043] PCR 反应体系:EX 10×buffer 2 μL, dNT 0.2mmol/L,5SRNAR 引物 0pmoles, invSR1R 引物 80pmoles, EX Taq 1.5unit,模板 DNA 20ng, ddH₂O 补至 50 μL。PCR 反应程序:94℃ 4min;94℃ 50s,55℃ 50s,72℃ 3min,35 个循环;72℃ 7min。结果(见图 2) IGS2(Intergenic spacer 2) 扩增生成 5 个片段:大小分别为:8500bp、3450bp、3030bp、570bp、320bp。经检索,没有发现与猴头菇中农猴头 1 IGS2 的序列数据相似的序列(IGS2 序列可用以鉴定种内不同菌株),结果说明中农猴头 1 为新的猴头菌菌株。

[0044] 实施例 3 猴头菌中农猴头 1 菌丝体的深层发酵培养

[0045] 按照如下步骤进行:

[0046] (1)、菌种活化在无菌条件下,从中农猴头 1(已于 2009 年 12 月 23 日在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏,保藏编号为:CGMCC3536)母种试管中取出大小 2-4mm×2-4mm 的菌丝块,迅速接种于斜面培养基,塞上硅胶塞,于 25℃培养箱中培养 15d,得到活化的中农猴头 1 菌种。其中所述的斜面培养基按照如下方法制备:将马铃薯去皮,称取 200g,切成 1cm³ 左右的小块,加水煮到马铃薯软而不烂,用 4 层纱布过滤。取滤液,加入

葡萄糖 20g,琼脂 20g,加热至琼脂完全溶化,此间不停搅拌,防止糊锅,再加水补至 1000mL,趁热分装进试管,装液量为试管总容积的 1/4 ~ 1/3,塞上硅胶塞,包上报纸两层用橡皮筋扎紧,置高压蒸汽灭菌锅中 121℃、0.12MPa 下灭菌 30min,灭菌完毕趁热摆成斜面。

[0047] (2)、一级菌种培养在无菌条件下,用接种针将步骤(1)中所得的 0.01-0.03cm³ 大小的活化中农猴头 1 菌种块,捣碎,放入装有液体种子培养基(装液量 100ml)的三角瓶中,塞上瓶塞;在 25℃、转速为 150rpm 条件下培养 10d,得到一级菌种(种子液),置于冰箱备用。其中所述的液体种子培养基的制备:按照下述比例将葡萄糖 2.0%、玉米淀粉 0.05%、麦麸 0.4%、蛋白胨 0.2%、酵母粉 0.3%、KH₂PO₄ 0.1%、MgSO₄·7H₂O 0.05%、VB₁ 10mg/L,其余成分为水,混合均匀,在 121℃下灭菌 30min 即可,其中摇瓶中的装液量为 200ml/500ml。

[0048] (3)、10L 种子罐发酵培养:在无菌条件下,迅速取下摇瓶瓶塞,按照 10%的体积比将步骤(2)摇瓶中农猴头 1 的一级菌种液迅速倒入装有液体发酵培养基的 10L 种子罐内。然后在 26℃、罐压 0.05MPa、通风量 100L/min 条件下培养 4d,即得二级菌种(或称为猴头菇菌丝体)。其中所述的液体发酵培养基的制备:按照下述含量将葡萄糖 27.43g/L,玉米淀粉 0.1g/L,酵母粉 3.88g/L,蛋白胨 2.88g/L,麦麸 1.0g/L, KH₂PO₄ 1.0g/L, MgSO₄ 0.5g/L 加入水中,混合均匀,然后用水定容,在 121℃下灭菌 30min 即可。

[0049] 100L 气升式发酵罐放大验证在无菌条件下,按照 10%的体积比将步骤(3)中所得的发酵 4d 的中农猴头 1 二级菌种(种子液)7.5L。在 26℃、罐压 0.05MPa、通风量 100L/min 条件下培养 7d。其中所述的液体发酵培养基的制备方法同前,发酵罐装液量为 75L。

[0050] 实验实施例 1 中农猴头 1 菌丝体生物量、多糖含量和胞内多糖含量测定

[0051] (1) 菌丝体生物量的测定

[0052] 按照如下方法进行:取实施例 3 所得的发酵液 100mL,在 3500r/min 下离心 15min,分别收获沉淀(菌丝体)和上清液(发酵液),将沉淀用蒸馏水冲洗 3 次,然后在 60℃下烘至恒重,称重。重复三次,取平均值。结果实施例 3 中所得的中农猴头 1 的菌丝生物量达 12.89g/L。

[0053] (2) 胞外粗多糖含量测定

[0054] 按照如下方法进行:取实施例 3 中所制备的发酵液 100mL,在 3000r/min 离心 20min,沉淀菌丝,用与发酵液同体积的蒸馏水反复洗涤(洗涤沉淀的菌丝,因为菌丝上可能粘有发酵液)后离心分离(条件同上),合并上清液,经旋转蒸发浓缩至原体积的 1/3,加入 95%的乙醇至终浓度为 75%醇析,沉淀 8h,然后在 3000r/min 离心 20min,沉淀用蒸馏水溶解,然后再加入 95%的乙醇至终浓度为 75%醇析,醇沉 8h,在 3000r/min 离心 20min,收集沉淀,60℃烘干至恒重,即为胞外粗多糖,结果实施例 3 中所得的中农猴头 1 的胞外多糖得率为 0.48g/L。

[0055] (3) 胞内多糖含量的测定:

[0056] 按照如下方法进行:取干菌丝体(W)(上述(1)中所得的菌丝体烘干得到),粉碎过 30 目筛,加入 30 倍于菌丝体干重的蒸馏水,在 95℃水浴锅中静置浸提两次,每次浸提 2h,合并浸提液,按苯酚-硫酸法测定多糖含量。结果上述中农猴头 1 的菌丝体中多糖含量为 1.65%。

[0057] 从以上测定结果可知,本发明方法培养的猴头菌的菌丝体生物量高,达到 12.89g/L,而现有方法中的猴头菌的菌丝体生物量一般为 6g/L 左右。其次本发明培养方法所得的猴头菌的胞外多糖和胞内多糖含量也高。

[0001]

序 列 表

序列表

<110> 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所

<120> 猴头菇的液体深层发酵培养方法

<160> 7

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 1

accgcatccc gtctgat

17

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 2

actggcagaa tcaaccaggt a

21

[0002]

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 3

tccgtaggtg aacctgcgg

19

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 4

cctccgctta ttgatatgc

19

<210> 5

<211> 631

<212> DNA

<213> Hericium erinaceus

<400> 5

tccgtaggtg aacctgcgga aggatcatta atgaattga aaggagttgt tgctggcctg

60

[0003]

aaaccaggc atgtgcacgc tccaatctca tccatcttac acctgtgcac ccttgcgtgg	120
gtccgtcggc tttgcggteg atgggcttgc gttttcata aactcttatg tatgtaacag	180
aatgtcataa tgctataaac gcatcttata caacttcaa caacggatct cttggctctc	240
gcatcgatga agaacgcagc gaaatgcgat aagtaatgtg aattgcagaa ttcagtgaat	300
catcgaatct ttgaacgcac ctgcecccc ttgtattcc gaggggcacg cctgttcgag	360
tgctgtgaaa ttctcaactc aatcctcttg ttatgagagg gctgggcttg gacttgagg	420
tcttgccggg gctccctcgg gaagtcggct cctcttgaat gcatgagtgg atctctttg	480
tagggttgc ccttgggtg ataattatct acgccgcggg tagccttgcg ttgtctgct	540
tctaaccgtc ctccgacaa tttcatctc aacttgacct cgaatcaggc gggactacc	600
gctgaactta agcatatcaa taagcggacg g	631

<210> 6

<211> 631

<212> DNA

<213> Hericium erinaceus

<400> 6

tccgtaggtg aacctgcgga aggatcatta atgaattga aaggagtgtg tgctggcctg	60
aaaccaggc atgtgcacgc tccaatctca tccatcttac acctgtgcac ccttgcgtgg	120
gtccgtcggc tttgcggteg atgggcttgc gttttcata aactcttatg tatgtaacag	180
aatgtcataa tgctataaac gcatcttata caacttcaa caacggatct cttggctctc	240
gcatcgatga agaacgcagc gaaatgcgat aagtaatgtg aattgcagaa ttcagtgaat	300
catcgaatct ttgaacgcac ctgcecccc ttgtattcc gaggggcacg cctgttcgag	360
tgctgtgaaa ttctcaactc aatcctcttg ttatgagagg gctgggcttg gacttgagg	420
tcttgccggg gctccctcgg gaagtcggct cctcttgaat gcatgagtgg atccctttg	480
tagggttgc ccttgggtg ataattatct acgccgcggg tagccttgcg ttgtctgct	540
tctaaccgtc ctccgacaa tttcatctc aacttgacct cgaatcaggc gggactacc	600
ctgaactta gcatatcaat aagcggacgg a	631

[0004]

<210>	7	
<211>	631	
<212>	DNA	
<213>	Hericium erinaceus	
<400>	7	
tccgtaggtg aacctgcgga aggatcatta atgaattga aaggagtgtg tgctggcctg		60
aaaccaggc atgtgcacgc tccaatctca tccatcttac acctgtgcac ccttgcgtgg		120
gtccgtcggc ttgcggteg atgggcttgc gttttcata aactcttatg tatgtaacag		180
aatgtcataa tgctataaac gcatcttata caacttcaa caacggatct cttggctctc		240
gcatcgatga agaacgcagc gaaatgcgat aagtaatgtg aattgcagaa ttcagtgaat		300
catcgaatct ttgaacgcac ctgcgcccc ttgtattcc gaggggcacg cctgttcgag		360
tgctcgtgaaa ttctcaactc aatcctcttg ttatgagagg gctgggcttg gacttgagg		420
tcttgccggt gctccctcgg gaagtcggct cctcttgaat gcatgagtgg atctctttg		480
tagggttgc ccttgggtg ataattatct acgccgcggg tagccttgcg ttggtctgct		540
tctaaccgtc ttcggacaac tttcatctca acttgacctc gaatcaggcg ggactaccg		600
ctgaacttaa gcatatcaat aagcggacgg a		631

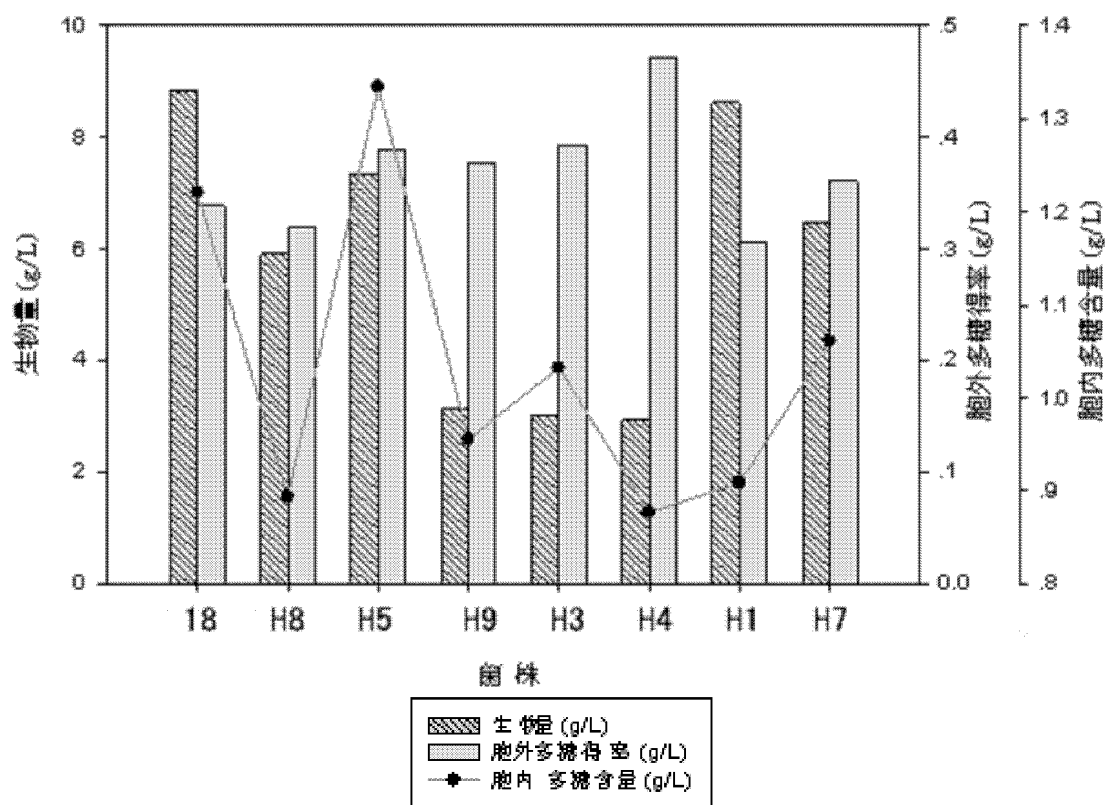


图 1

www.patviewer.com

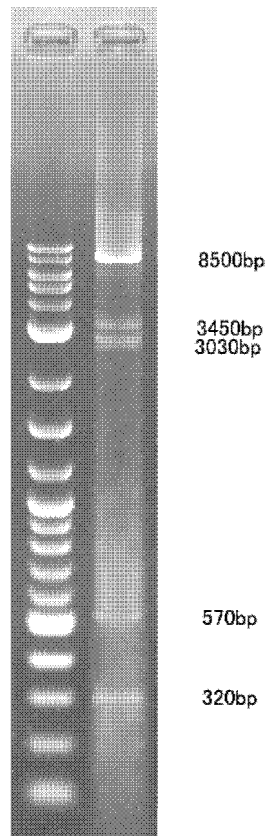


图 2

www.patviewer.com