

一种圆红冬孢酵母菌Y0及其应用

申请号：[201410073836.4](#)

申请日：2014-02-28

申请(专利权)人 [中国科学院南海海洋研究所](#)
地址 [510301 广东省广州市新港西路164号](#)
发明(设计)人 [罗鹏 江海英 夏建军 胡超群](#)
主分类号 [C12N1/16\(2006.01\)I](#)
分类号 [C12N1/16\(2006.01\)I](#) [A23K1/16\(2006.01\)I](#) [A23K1/18\(2006.01\)I](#)
[C02F3/34\(2006.01\)I](#) [C12R1/645\(2006.01\)N](#)
[C02F103/08\(2006.01\)N](#)
公开(公告)号 [103911297A](#)
公开(公告)日 [2014-07-09](#)
专利代理机构 [广州科粤专利商标代理有限公司 44001](#)
代理人 [刘明星](#)



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103911297 B

(45) 授权公告日 2015. 10. 28

(21) 申请号 201410073836. 4

(22) 申请日 2014. 02. 28

(83) 生物保藏信息

CCTCC No :M2013725 2013. 12. 29

(73) 专利权人 中国科学院南海海洋研究所

地址 510301 广东省广州市新港西路 164 号

(72) 发明人 罗鹏 江海英 夏建军 胡超群

(74) 专利代理机构 广州科粤专利商标代理有限公司 44001

代理人 刘明星

(51) Int. Cl.

C12N 1/16(2006. 01)

A23K 1/16(2006. 01)

A23K 1/18(2006. 01)

C02F 3/34(2006. 01)

C12R 1/645(2006. 01)

C02F 103/08(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102246850 B, 2012. 11. 07, 全文.

CN 102642993 B, 2013. 12. 25, 全文.

CN 103224884 A, 2013. 07. 31, 说明书实施例 2.

WO 2011073431 A2, 2011. 06. 23, 全文.

王祥敏等. 热带太平洋活性微生物菌株的筛选和鉴定. 《台湾海峡》. 2006, 第 25 卷 (第 04 期), 465-472.

杨世平等. 一株海洋红酵母

(*rhodosporidium paludigenum*) 的营养组分分析. 《饲料工业》. 2011, 第 32 卷 (第 10 期), 52-54.

审查员 赵硕

权利要求书1页 说明书7页

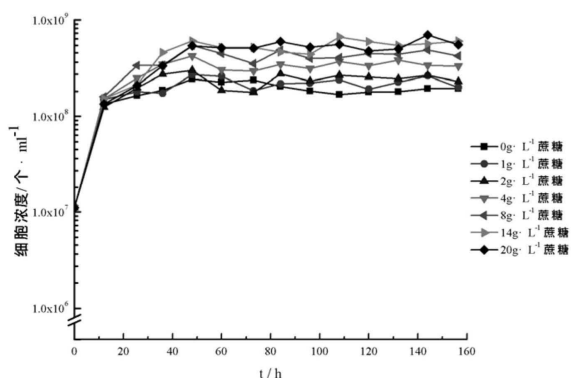
序列表3页 附图2页

(54) 发明名称

一种圆红冬孢酵母菌 Y0 及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种圆红冬孢酵母菌 Y0 及其应用。圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0 于 2013 年 12 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC), 地址: 中国武汉市武汉大学, 保藏编号: CCTCC No :M2013725。本发明的圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0 具有丰富的营养, 可应用于生产动物功能性饲料添加剂, 同时可以海水养殖废水作为主要营养物来源, 在按照质量体积比添加 10 ~ 14% 蔗糖作为补充碳源的情况下, 快速在海水养殖废水中生长, 从而达到即利用海水养殖废水、减少废水排放污染又获得高值水产动物饲料添加剂的目的。



1. 圆红冬孢酵母菌(*Rhodosporidium toruloides*)Y0, 其保藏编号:CCTCC No:M2013725。

2. 权利要求 1 所述的圆红冬孢酵母菌(*Rhodosporidium toruloides*)Y0 在生产水产养殖动物的功能性饵料添加剂中的应用。

3. 权利要求 1 所述的圆红冬孢酵母菌(*Rhodosporidium toruloides*)Y0 在海水养殖废水资源化处置中的应用。

4. 根据权利要求 3 所述的圆红冬孢酵母菌(*Rhodosporidium toruloides*)Y0 在海水养殖废水资源化处置中的应用,且特征在于,具体方法为:先将圆红冬孢酵母菌(*Rhodosporidium toruloides*)Y0 培养于 YPD 培养基中,形成种子液,再将种子液以 2~5% (V/V)的比例添加到浓缩且经消毒处理的海水养殖废水中,按照质量体积比添加 10~14% 的蔗糖作为碳源,室温经 48~72 小时培养,再经过滤、分步沉降,即可获得圆红冬孢酵母发酵产品。

一种圆红冬孢酵母菌 Y0 及其应用

技术领域：

[0001] 本发明属于微生物应用技术领域，具体涉及一种圆红冬孢酵母菌 Y0 及其应用。

背景技术：

[0002] 酵母营养丰富、大小适中，是很多生物优良的天然饵料，同时酵母也是一类腐生菌，可以分解多种物质，利用养殖水体中的有机物、氨氮、硫化氢等养殖废物，并形成优势种群，有效地抑制其它有害微生物的生长，起到生物防治的作用。近年来随着水产养殖技术的进步，酵母在水产养殖中的应用越来越广泛。

[0003] 然而目前市场上可应用海水养殖的酵母还非常少，常用的酵母仍然是来自于食品酿造的面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)，这种来自于陆生环境的酵母并不能适应海水环境，因此不能发挥净化水质的作用，其对于海洋水产动物生长的影响也缺乏科学的报道。基于此种情况，迫切需要分离适应于海洋环境的单细胞酵母用于海洋水产养殖。另一方面，生产酵母的原料多为人类或动物的食品材料，由此导致生产成本较高，最终形成的酵母产品价格也较高，限制了其在水产养殖中的广泛应用。因此需要探索新的廉价的酵母生产原料。

[0004] 此外，我国海水养殖蓬勃发展以及强劲扩张并没有同步进行养殖废水排放的严格限制，由此带来了严重的环境污染问题。在社会日益重视环境保护的今天，发展环境友好型水产养殖模式，走可持续的水产养殖发展道路成为必然趋势。目前，一些养殖废水处理方法虽然将养殖废物从水体中分离出去，但是不能有效的利用养殖废物。如何进行养殖废水、废物的资源化利用是发展环境友好型水产养殖模式必须要解决的问题。

发明内容：

[0005] 本发明的第一个目的是提供一种提供一株具有高营养价值、高效利用海水养殖废水的海洋圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*) Y0，该菌于 2013 年 12 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC)，地址：中国武汉市武汉大学，保藏编号：CCTCCNo：M2013725。

[0006] 本发明所述的圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*) Y0 分离于广东湛江对虾养殖场排污口。酵母菌分离培养基为 YPD 酵母专用培养基。圆红冬孢酵母菌筛选培养基为对虾养殖废物培养基。本筛选的目的是获得能在对虾养殖废物培养基生长的酵母种类，分离的酵母将具有在低糖或无糖条件下利用养殖废物的能力。

[0007] 圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的菌落形态特征和细胞形态特征：菌落在 YPD 培养基平板上培养 24 小时为白色，72 小时后为浅红色，菌落圆形突起，表面光滑，质地粘稠，奶油状，边缘较为整齐，无酒香味。细胞形态球形或椭球形，单个，见出芽（如图 1 所示）。圆红冬孢酵母菌的对虾养殖废物培养基上生长状态与 YPD 培养基类似。

[0008] 以酵母基因组提取试剂盒（购自 Takara, China）提取 Y0 菌株的 DNA。PCR 扩增并测序 18S rDNA、26S rDNA、ITS rDNA 片段，其 18S rDNA、26S rDNA、ITS rDNA 序列分别

如 SEQ ID NO.1 ~ 3 所示,经 blast 比对及种系发生分析表明:Y0 菌株的 18S rDNA 序列与 *Rhodospiridium toruloides* 序列关系最近,以 100% 的支持率聚为一枝。与 Y0 菌株的 26S rDNA、ITS rDNA 最高相似度达 99% 的酵母只有 *Rhodospiridium toruloides*,均以 100% 的支持率聚为一枝。根据以上多基因同源序列结果及系统发育分析结果得出, Y0 菌株属圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*) 的新菌株,命名为圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0,该菌种已于 2013 年 12 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC),地址:中国 武汉市武汉大学,保藏编号:CCTCC No:M2013725。

[0009] 经实验测定圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 具有丰富的营养,因此,本发明的第二个目的是提供圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在生产水产养殖动物的功能性饵料添加剂中的应用。

[0010] 经蔗糖浓度梯度测试,确定在养殖废水中培养圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 于 48h 达到稳定期。添加适量蔗糖可以显著增加细胞浓度,蔗糖的最优添加量为 $14\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,细胞浓度 $6.1 \times 10^8 \text{个} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。

[0011] 本发明的第三个目的是提供圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在海水养殖废水资源化处置中的应用。

[0012] 先将圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 培养于 YPD 培养基中,形成种子液。再将种子液以 2 ~ 5% (V/V) 的比例添加到浓缩且经消毒处理的海水养殖废水中,针对海水养殖废水中碳源相对缺乏的特征,按照质量体积比添加 10 ~ 14% 的蔗糖作为碳源。室温经 48 ~ 72 小时培养,再经过滤、分步沉降,即可获得圆红冬孢酵母发酵产品,从而达到养殖废水高值化利用目的。

[0013] 本发明的圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 于 2013 年 12 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC),地址:中国武汉市武汉大学,保藏编号:CCTCC No:M2013725。

[0014] 附图说明:

[0015] 图 1 是圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 培养及细胞形态图。其中, a:圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在 YPD 平板上的菌落形态;b:圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 细胞形态,细胞球形或椭圆形,出芽生殖,标尺 = $10 \mu\text{m}$;c:圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 菌液呈橙红色;d:圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 菌株在对虾养殖废物平板上的菌落形态;

[0016] 图 2 是圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在 YPD 液体培养基中的生长曲线;

[0017] 图 3 是不同蔗糖浓度下圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在废水培养基中的生长曲线。

具体实施方式:

[0018] 以下实施例是对本发明的进一步说明,而不是对本发明的限制。所用的方法及技术如无特别说明均为常规的方法及技术。

[0019] 实施例 1:

[0020] 一、圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*)Y0 的分离、筛选及鉴定。

[0021] (1)、圆红冬孢酵母菌(*Rhodosporidium toruloides*) Y0 的分离、筛选

[0022] 取广东湛江对虾养殖场排水口污泥 1g, 加入灭菌海水 10ml, 混匀后取 200 μ L 涂布酵母菌分离培养基(YPD) 平板, YPD 为酵母专用培养基, 制备方法为: 葡萄糖(单独灭菌) 20g, 蛋白胨 20g, 酵母提取物 10g, 海水 1L, 灭菌后冷却加入 1ml 150mg/ml 的氯霉素。30 $^{\circ}$ C 培养 48 小时后, 挑取生长菌落, 纯化并保存, 得到分离菌。

[0023] 将上述分离菌培养于液体 YPD 中, 分别取 1 μ L 点种于酵母菌筛选培养基, 此筛选培养基为对虾养殖废物培养基平板, 制备方法为: 虾粪干粉 20g, 琼脂粉 20g, 海水 1L, 灭菌后稍冷, 加入 1ml 150mg/ml 的氯霉素。本筛选的目的是获得能在对虾养殖废物培养基生长的酵母种类, 分离的酵母将具有在低糖或无糖条件下利用养殖废物的能力。30 $^{\circ}$ C 培养 72 小时后, 记录生长且菌落为浅红色的菌株, 挑出其中一株生长快、菌落大、颜色为浅红色的菌株记录为 Y0。

[0024] (2)、圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0 的多相分子鉴定

[0025] 采用锚定于真菌 18S rDNA、26S rDNA、ITS rDNA 基因片段的引物, 进行 PCR 扩增, 并将 PCR 产物测序。引物序列如表 1 所示。

[0026] 表 1. 引物的名称及序列

[0027]

基因	引物名称	引物序列
18S rDNA	EF3	5'-TCCTCTAAATGACCAAGTTTG-3'
	EF4	5'-GGAAGGGRTGTATTTATTAG-3'
26S rDNA	NL1	5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'
	NL4	5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'
ITS rDNA	ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
	ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

[0028] 菌株 Y0 18S rDNA、26S rDNA、ITS rDNA 序列分别如 SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3 所示。经 blast 比对及种系发生分析表明: Y0 菌株的 18S rDNA 序列与 *Rhodosporidium toruloides* 序列关系最近, 以 100% 的支持率聚为一枝。与 Y0 菌株的 26S rDNA、ITS rDNA 最高相似度达 99% 的酵母只有 *Rhodosporidium toruloides*, 均以 100% 的支持率聚为一枝。根据以上多基因同源序列结果及系统发育分析结果得出, Y0 菌株属圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) 的新菌株, 命名为圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0, 该菌种已于 2013 年 12 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC), 地址: 中国武汉市武汉大学, 保藏编号: CCTCC No: M2013725。

[0029] 二、圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0 的营养成分分析

[0030] 采用凯氏定氮法 (GB/T6432-94) 对圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0 菌株的蛋白质含量进行测定, 在培养 2d 时为粗蛋白含量为 32.55%, 培养 5d 时粗蛋白含量达 44.10%, 说明在稳定期后圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0 细胞内仍在累积蛋白质。圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0 蛋白质含

量高于通常用于单细胞蛋白生产的面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中蛋白质的含量(29%)。

[0031] 以液相色谱法(GB/T18246-2000)测定圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 菌株氨基酸组成。其氨基酸组成见表 2, 结果表明:总水解氨基酸占细胞干重的 27.3%, 其中必需氨基酸占总氨基酸的 50.8%。圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 与花刺参(*Stichopus herrmanni*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的氨基酸组成模式相似, 圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 对花刺参及凡纳滨对虾的氨基酸组成计算生物价(BV)分别为 83.6 和 83.75, 这一结果表明圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 作为水产饵料具有良好的应用潜力。

[0032] 表 2. 圆红冬孢酵母 Y0 菌株氨基酸组成及与水产生物比较

[0033]

氨基酸	圆红冬孢酵母 Y0	花刺参 ^c	凡纳滨对虾 ^d
必需 ^a			
Arg	9.34	8.44	9.58
His	4.39	0.84	2.18
Ile	4.33	3.11	4.13
Leu	8.06	4.52	7.13
Lys	7.89	2.28	5.33
Met	1.67	1.27	2.12
Phe	4.39	2.65	5.06
Thr	4.75	5.39	4.03

[0034]

Trp	N.D.	0.37	0.92
Val	5.95	3.86	4.57
非必须 ^a			
Ala	7.27	9.42	5.60
Asp	8.81	10.46	9.85
Cys	N.D.	N.D.	1.03
Glu	16.30	14.49	14.69
Gly	5.40	19.76	7.94
Pro	4.61	6.89	6.80
Ser	5.07	4.21	4.13
Tyr	1.80	2.05	4.13
EAA ^b	50.76	32.73	45.05

[0035] ^a水产动物中的十种必须氨基酸；^b必须氨基酸的总和；^c花刺参的氨基酸含量参考文献(Wen 等, 2010)；^d凡纳滨对虾的氨基酸含量参考文献(Tacon 等, 2002)。

[0036] 以气相色谱法(GB/T17377-2008)测定圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 脂肪酸组成, 结果见表 3。由表可见, 圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 油酸(C18:1)含量最高, 占总脂肪酸的 54.55%; 其次是棕榈酸(C16:0), 占总脂肪酸的 18.90%。总不饱和脂肪酸含量分别高达 61.63%, 由此可见圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的脂肪酸组成比例合适, 具有较高的营养价值。

[0037] 表 3. 圆红冬孢酵母 Y0 的脂肪酸组成 (占总脂肪酸的百分比)

[0038]

脂肪酸组成	圆红冬孢酵母 Y0
饱和脂肪酸	
C12:0	0.15
C14:0	1.50
C15:0	0.46

[0039]

C16:0	18.90
C17:0	0.95
C18:0	10.70
C20:0	0.69
C21:0	1.15
C22:0	0.82
C23:0	1.00
C24:0	2.05
Σ SFA ^a	38.35
单不饱和脂肪酸	
C14:1	N.D.
C16:1	0.67
17:1	0.87
C18:1	54.55
C20:1	0.40
Σ MUFA ^b	56.48
多不饱和脂肪酸	
C18:2	4.50
C18:3	0.65
Σ PUFA ^c	5.15
Σ UFA ^d	61.63

[0040] ^a饱和脂肪酸的总和；^b单不饱和脂肪酸的总和；^c多不饱和脂肪酸的总和；^d不饱和脂肪酸的总和；N. D. 未检出。

[0041] 三、圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在养殖废水培养基中的生长曲线及最适糖添加量确定

[0042] 圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在 YPD 培养基的生长曲线如图 2 所示。圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在含不同蔗糖浓度的废水培养基中的生长曲线如图 3 所示。由图可见：圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*)Y0 在废水培养基中的生长曲线与其在 YPD 培养基总体趋势相同，延滞期未观察到，48h 时达到稳定期。统计分析表明：利用废水培养基培养圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*)Y0 时，蔗糖的最优添加量为 $14\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，在该蔗糖浓度下，培养 48h 后圆红冬孢

酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的细胞浓度达 6.06×10^8 个 $\cdot \text{ml}^{-1}$, 比接种浓度高 53.6 倍。实验结束后测得, 当蔗糖浓度为 $14 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 废水培养基中可获得酵母粗制品 $16.04 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。48h 时圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 在 YPD 培养基中的细胞浓度为 $2.33 \times 10^8 \text{cfu} \cdot \text{ml}^{-1}$, 比接种浓度高 25.2 倍。培养 48h 后圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 在废水培养基中的细胞浓度可以达到其在 YPD 培养基中细胞浓度的 2.6 倍。因此与 YPD 商品化培养基相比, 添加蔗糖后的养殖废水培养基显示出更优的培养效果。

[0043] 四、圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 在海水养殖废水资源化处置中的应用

[0044] 将圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 接种于 YPD 培养基, 30°C 过夜培养, 作为种子培养液。从工厂化循环水海水鱼类养殖系统分离收集的浓缩养殖废水, 集中到资源化处理池, 通入臭氧进行消毒处理, 消毒处理后, 放置 24 小时, 期间搅动池水多次, 以助进水体曝气。以 2% (V/V) 的比例加入种子培养液, 然后按照质量体积比加入 10% 的蔗糖, 充分搅动混匀, 室温发酵 72 小时, 期间尽量多次搅动。

[0045] 发酵结束后, 搅动池水, 以水泵抽出池水分别通过筛有 10 目、20 目、40 目筛绢的网笼。由于圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的个体相对细菌要大, 过滤后的水体经自然沉降 8 小时, 圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 自然沉降至容器底部, 吸除上层海水, 下层粘稠的浅红色膏体即为圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的发酵产物。

[0046] 该圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的发酵产物可以直接用于投喂水产养殖动物, 也可以进一步干燥后包装成商品销售。

[0047] 实施例 2:

[0048] 将圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 接种于 YPD 培养基, 30°C 过夜培养, 作为种子培养液。对虾集约化养殖系统中央排污系统排出的废水, 集中到资源化处理池, 待自然沉降 24 小时后, 以水泵吸除上层多余的清水, 只留下底部的少量污水和残饵粪便。通入臭氧进行消毒处理, 消毒处理后, 放置 24 小时, 期间搅动池水多次, 以助进水体曝气。以 5% (V/V) 的比例加入种子培养液, 然后按照质量体积比加入 14% 的蔗糖, 充分搅动混匀, 室温发酵 48 小时, 期间尽量多次搅动。

[0049] 发酵结束后, 搅动池水, 以水泵分别抽出池水分别通过筛有 10 目、20 目、40 目筛绢的网笼。由于圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的个体相对细菌要大, 过滤后的水体经自然沉降 8 小时, 圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 自然沉降至容器底部, 吸除上层海水, 下层粘稠的白色膏体即为圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的发酵产物。

[0050] 该圆红冬孢酵母菌(*Rhodospiridium toruloides*) Y0 的发酵产物可以直接用于投喂水产养殖动物, 也可以进一步干燥后包装成商品销售。

[0001]

序列表

<110>中国科学院南海海洋研究所

<120>一种圆红冬孢酵母菌 Y0 及其应用

<160>1

<210>1

<211>1477

<212>DNA

<213>圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0

<400>1

GTCTCCTTGG TGATCATGAT AACTGCTCGA ATCGCATGGC CTTGTGCCGG CGATGCTTCA 60
 TTCGAATATC TGCCCTATCA ACTTTCGATG GTAGGATAGA GGCCTACCAT GGTGATGACG 120
 GGTAACGGGG AATAAGGGTT CGATTCCGGA GAGAGGGCCT GAGAAACGGC CCTCAGGTCT 180
 AAGGACACGC AGCAGGCGCG CAAATTATCC CCTGGCAACA CTTTGCCGAG ATAGTGACAA 240
 TAAATAACAA TGCAGGGCTC TTACGGGTCT TGCAATTGGA ATGAGTACAA TTTAAATCCC 300
 TTAACGAGGA TCAATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGTAAT TCCAGCTCCA 360
 ATAGCGTATA TTAAAGTTGT TGCCGTAAA AAGCTCGTAG TCGAACTTCG GGCTCTGCCA 420
 GCCGGTCCGC CTTCTTGGTG TGTACTTGTT TGGTGGAGCC TTACCTCCTG GTGAACAGCG 480
 ATGTCCTTCA CTGGGTGTCG TTGCAAACCA GGACGTTTAC TTTGAAAAAA TTAGAGTGTT 540
 CAAAGCAGGC CTTTGCCCGA ATACATTAGC ATGGAATAAT AGAATAGGAC GCGCGTTCCC 600
 ATTTTGTGG TTTCTGAGAT CGCCGTAATG ATTAATAGGG ATAGTTGGGG GCATTTGTAT 660
 TCCGTCTGCA GAGGTGAAAT TCTTGGATTG CCGGAAGACA AACTACTGCG AAAGCATTG 720
 CCAAGGATGT TTTCATTGAT CAAGAACGAA GGAAGGGGGA TCGAAAACGA TTAGATACCG 780
 TTGTAGTCTC TTCTGTAAAC TATGCCAATT GGGGATCGGC ACAGGATTTT TAATGACTGT 840
 GTCGGCACCC GAAGAGAAAT CTTTAAATGA GGTTCGGGGG GGAGTATGGT CGCAAGGCTG 900

[0002]

AAACTTAAAG GAATTGACGG AAGGGCACCA CCAGGTGTGG AGCCTGCGGC TTAATTTGAC 960
TCAACACGGG GAAACTCACC AGGTCCAGAC ACAATAAGGA TTGACAGATT GATAGCTCTT 1020
TCTTGATCTT GTGGTTGGTG GTGCATGGCC GTTCTTAGTT GGTGGAGTGA TTTGTCTGGT 1080
TAATTCCGAT AACGAACGAG ACCTTAACCT GCTAAATAGA CCAGCCGGCT TTGGCTAGCT 1140
GCTGTCTTCT TAGAGGGACT ATCAGCGTTT AGCTGATGGA AGTTTGAGGC AATAACAGGT 1200
CTGTGATGCC CTTAGATGTT CTGGGCCGCA CGCGCGCTAC ACTGACAGAG CCAGCGAGTC 1260
TACCACCTTT GCCGGAAGGC ATGGGTAATC TTGTGAAACT CTGTGCGTAT GGGGATAGAG 1320
CATTGCAATT ATTGCTCTTC AACGAGGAAT ACCTAGTAAG CGTGATTCAT CAGATCGCGT 1380
TGATTACGTC CCTGCCCTTT GTACACACCG CCCGTCGCTA CTACCGATTG AATGGCTTAG 1440
TGAGGCCTCC GGATTGGCTA TCGGGAGCTC GCGAGAG 1477

<210>2

<211>611

<212>DNA

<213>圆红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium toruloides*) Y0

<400>2

TGCATATCAA AAAAGCGGAG GAAAAGAAAC TAACAAGGAT TCCCCTAGTA GCGGCGAGCG 60
AAGCGGGAAG AGCTCAAATT TGTAATCTGG CACCTTCGGT GTCCGAGTTG TAATCTCTAG 120
AAGTGTTTTT CGCGTTGGAC CGCACACAAG TCTGTTGGAA TACAGCGGCA TAGTGGTGAT 180
ACCCATTAC ACGGTGCGGA CGCCAGCGC TTTGTGATAC ACTTTCGACG AGTCGAGTTG 240
TTTGGGAATG CAGCTCAAAT TGGGTGGTAA ATTCCATCTA AAGCTAAATA TTGGCGAGAG 300
ACCGATAGCG AACAAGTACC GTGAGGGAAA GATGAAAAGC ACTTTGGAAA GAGAGTTAAA 360
AGTACGTGAA ATTGTTGGAA GGGAAACGCT TGAAGTCAGA CTTGCTTGCC GGGCTTGCTC 420
GGTTTGCAGG CCAGCATCAG TTTTCTGGGA CGGATAATGG CAGTTAGAAT GTAGCAGTCT 480
CGGCTGTGTT ATAGCTTTCT GCTGGATACG TCCTGGGGGA CTGAGGAACG CAGCGTGCCG 540
TATGGCGAGG GCTTCGGTCC TTTACGCTT AGGATGCTGG TGGAATGGCT TAAACGACC 600
CGTCTTGAAC C 611

<210>3

[0003]

<211>613

<212>DNA

<213>圆红冬孢酵母菌（*Rhodospiridium toruloides*）Y0

<400>3

```
TTCCGTAGGG TGAACCTGCG GAAGGATCAT TAGTGAATAT AGGGTGTCCA ACTTAACTTG 60
GAGCCCGACC CTCACTTTCT AACCCGTGTC ATTTGTCTTG GGTAGTAGCT TGCCTCAGCG 120
AGCGAATCCC ATTTCACTTA CAAACACAAA GTCTATGAAT GTAACAAATT TATAACAAAC 180
AAAACTTTCA ACAACGGATC TCTTGGCTCT CGCATCGATG AAGAACGCAG CGAAATGCCA 240
TACGTAATGT GAATTGCAGA ATTCAGTGAA TCATCGAATC TTTGAACGCA CCTTGCCTC 300
CATGGTATTC CGTGGAGCAT GCCTGTTTGA GTGTCATGAA TTCTCAACC CACCTCTTTC 360
TTAGTGAATC AGGCGGTGTT TGGATTCTGA GCGTTGCTGG CCTCACGGTC TAGCTCGCTC 420
GTAATGCATT AGCATCCGCA ATCGAACTTC GGATTGACTC GGCGTAATAG ACTATTCGCT 480
GAGGATTCTG GTCTCTGACT GGAGCCGGGT AAGATTAAAG GAAGCTACTA ATCCTCATGT 540
CTATCTTGAG ATTAGACCTC AAATCAGGTA GGACTACCCG CTGAACTTAA GCATATCAAT 600
AAGCCGGAGG AAA 613
```

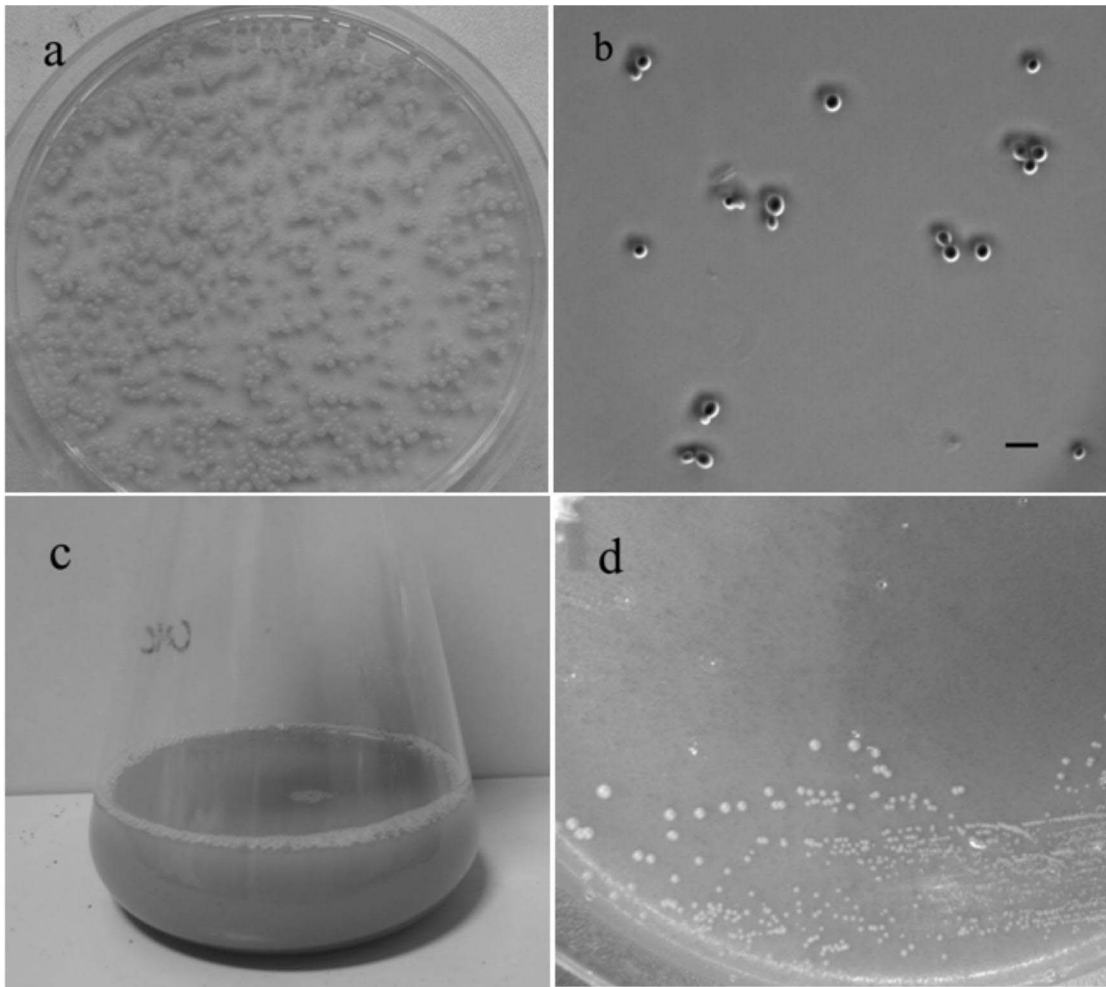


图 1

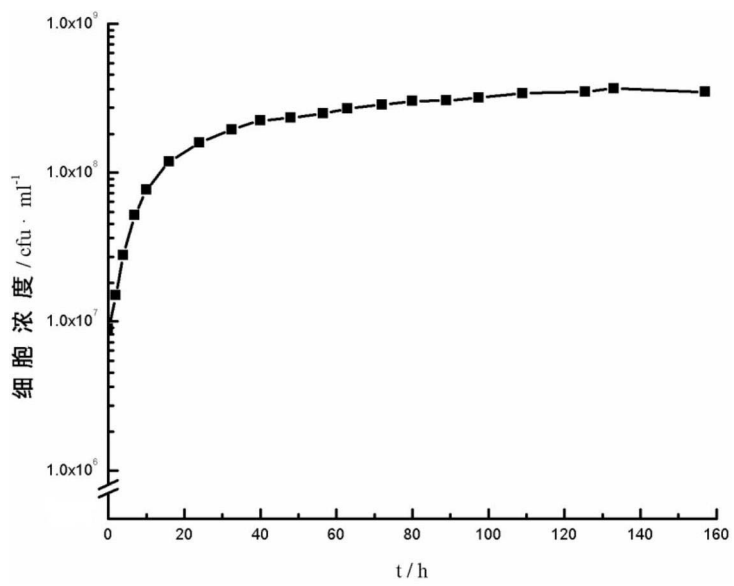


图 2

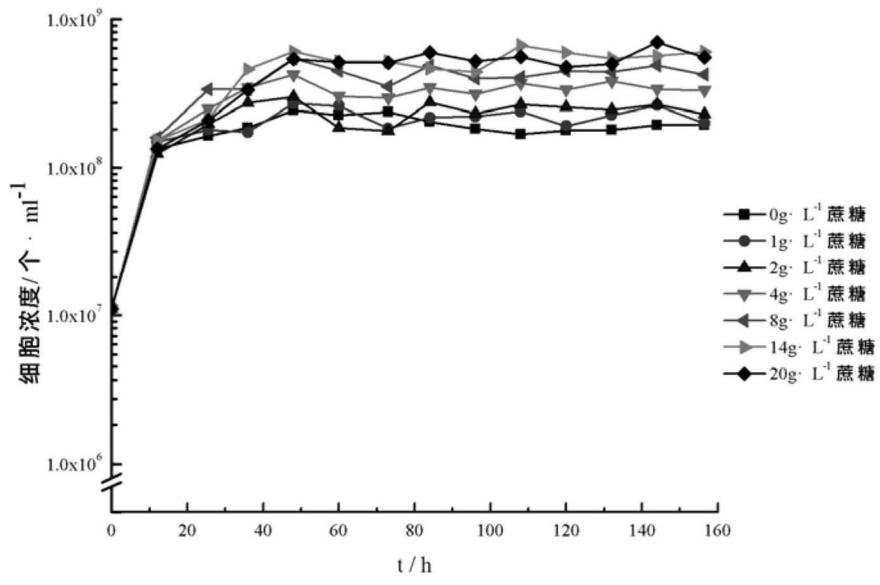


图 3