



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106970064 A

(43)申请公布日 2017.07.21

(21)申请号 201710119555.1

(22)申请日 2017.03.02

(71)申请人 江苏大学

地址 212013 江苏省镇江市京口区学府路  
301号

(72)发明人 杨明秀 陈全胜 李欢欢 欧阳琴  
郭志明 孙浩 刘妍

(51) Int. Cl.

G01N 21/65(2006.01)

B82Y 30/00(2011.01)

B82Y 40/00(2011.01)

B82Y 5/00(2011.01)

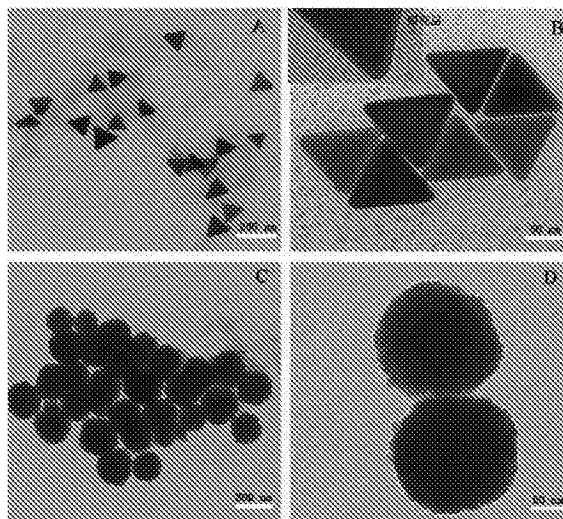
权利要求书1页 说明书5页  
序列表1页 附图1页

(54)发明名称

一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法

(57)摘要

一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,该方法通过三步种子诱导法制得金纳米三角,金纳米三角上标记5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)信号分子,银壳层的包覆,合成金/DTNB/银纳米三角并在其上修饰真菌毒素适配体链,超顺磁性壳聚糖四氧化三铁(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料的制备,CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>上修饰真菌毒素适配体链,检测体系的构建,标准曲线的建立来实现;本发明基于金纳米三角的强拉曼增强效果,制备出DTNB分子标记,银壳层保护,具有双重拉曼增强效应的金/DTNB/银纳米三角增强基底,通过CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>的分离作用,金@DTNB@银纳米三角的表面增强拉曼效应和适配体的特异性识别作用,实现食品中真菌毒素的定量检测;该方法适用于食品安全、材料化学等技术领域。



1. 一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,其特征在于,该方法包括如下具体步骤:

步骤1) 真菌毒素适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的制备:采用三步金种子诱导法合成粒径均一的金纳米三角,在已合成的金纳米三角表面通过静电吸附作用修饰DTNB拉曼信号分子,进一步通过调控加入硝酸银的量来制备合适银壳层厚度的金@DTNB@银纳米三角,用三(2-氯乙基)磷酸酯活化巯基修饰的真菌毒素适配体,然后将其通过Au-S键连接到金@DTNB@银纳米三角上,构成真菌毒素检测的信号放大探针;

步骤2) 真菌毒素适配体修饰的壳聚糖四氧化三铁磁性材料的制备:采用溶剂热法合成壳聚糖四氧化三铁磁性材料,壳聚糖含有大量的氨基,使磁性材料表面含有氨基,通过戊二醛交联法将氨基修饰的适配体连接到壳聚糖四氧化三铁磁性材料表面,构成真菌毒素检测捕获探针;

步骤3) 表面增强拉曼光谱检测体系的构建:首先将100 $\mu$ L不同浓度的真菌毒素加入到100 $\mu$ L步骤1)得到的真菌毒素检测捕获探针中,室温下孵育2h,向上述溶液中加入200 $\mu$ L步骤2)得到的真菌毒素检测信号探针,继续孵育6h,磁分离去除上清液,沉淀重新分散到100 $\mu$ L,Tris-HCl缓冲溶液中,用拉曼光谱仪在780nm激光激发下采集不同浓度真菌毒素组装体系的拉曼信号,从而建立组装体系拉曼信号强度和对应真菌毒素浓度间的标准曲线。

2. 根据权利要求1所述一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,其特征在于,金纳米三角的制备:采用三步金种子诱导法合成粒径均一的金纳米三角,金种子溶液1合成后室温下放置3h,除去过量的硼氢化钠再进行下一步的金纳米三角的生长。

3. 根据权利要求1所述一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,其特征在于在金种子溶液和生长溶液中快速加入碘化钠来增加金纳米三角的产率,通过在每40mL金纳米三角溶液中加入6mL,25%质量分数的DTAC来纯化金纳米三角。

4. 根据权利要求1所述一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,其特征在于,金@DTNB@银纳米三角的制备,将银壳层包覆在金纳米三角外,最佳的银壳层厚度为10 $\pm$ 5nm。

5. 根据权利要求1至4任一项所述一种基于适配体修饰的金/DTNB/银纳米三角的真菌毒素检测方法,其特征在于,表面增强拉曼光谱检测体系的构建:在100 $\mu$ L真菌毒素适配体修饰的壳聚糖四氧化三铁磁性材料中加入100 $\mu$ L不同浓度的真菌毒素,室温下孵育2h,反应结束后,加入上述合成的真菌毒素适配体链修饰的金@DTNB@银纳米三角溶液200 $\mu$ L,充分混合后室温下孵育6h,磁分离去除上清液,沉淀重新分散到100 $\mu$ L,Tris-HCl缓冲溶液中。用拉曼光谱仪在780nm激光激发下采集不同真菌毒素浓度组装体系的拉曼信号,从而建立了组装体系拉曼信号强度和对应真菌毒素浓度间的标准曲线。

## 一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及到食品安全、材料化学等技术领域,具体涉及到一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法。

### 背景技术

[0002] 真菌毒素(mycotoxin)是真菌生长产生的次级代谢产物。花生等谷物食品由于其储存方式不当、加工过程中(包括干燥、加工、储藏过程)特别容易受黄曲霉毒素的污染,具有潜在的致肝癌、胃癌、肾癌的可能性。目前常规的用于真菌毒素检测的方法,主要有生物鉴定法,但此方法只能用于定性检测,专一性不强,灵敏度低;化学分析法(薄层层析法),其精密度差,难以在实际中应用;仪器法(气相色谱法、液相色谱法、气质联用法、液质联用法),其前处理复杂,仪器昂贵;免疫分析法(酶联免疫吸附法,免疫荧光技术,放射免疫测定法等),其存在一定的假阳性。所以急需建立一种灵敏度高,稳定性强,操作简单的检测方法。

[0003] 表面增强拉曼散射是拉曼散射的延伸和发展,具有表面增强拉曼效应的基底材料(金、银、铜和一些过渡金属)与被测物质接触时其产生的电磁场会增强被测物质的拉曼信号,从而达到检测的目的。因此,表面增强拉曼效应的强弱与基底材料的结构、形状、尺寸以及与被测物的结合方式有很大的关系。表面增强拉曼光谱技术已经应用于农药、抗生素、细菌等痕量物质的检测,但在真菌毒素检测方面的研究相对较少,且基底材料的种类单一,检测灵敏度低,信号稳定性差,检测限需要进一步的提高。

[0004] 单金属增强基底与金属、二氧化硅、四氧化三铁、石墨烯等复合在一起可以组成具有特定化学特性和拉曼特性的核壳形增强基底,相对于单金属增强基底其拉曼增强效应更显著。金纳米三角与其它形貌的金纳米材料相比,由于其具有尖锐的边角,因此具有更好的等离子增强效应,拉曼增强效果相对于金纳米颗粒更显著;银具有很好的等离子增强效应,作为金纳米三角的外壳,能显著提高纳米三角的拉曼增强效果。DTNB作为一种没有荧光干扰和具有大散射截面的分子,作为拉曼信号分子标记于金银纳米三角壳层中间,能显著提高拉曼信号的稳定性。适配体的特异性和磁性材料的分离聚集作用可以拉近增强基底和待测物距离,进一步提高拉曼信号的强度和稳定性。因此,本专利制备了真菌毒素适配体修饰的金纳米三角为内核的DTNB标记的金@DTNB@银核壳纳米三角和壳聚糖包覆的四氧化三铁磁性材料( $CS-Fe_3O_4$ )磁性材料,构建了三明治结构的检测体系,大大提高了拉曼信号的强度和稳定性,成功应用于真菌毒素的超灵敏定量检测。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,该方法对真菌毒素的检测稳定性好,灵敏度高。适用于食品安全、材料化学等技术领域。

[0006] 本发明的技术方案包括：一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法包括金纳米三角为内核的毒素适配体修饰的金@DTNB@银核壳纳米三角的制备、真菌毒素适配体修饰的壳聚糖四氧化三铁磁性材料 (CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) 磁性材料的制备、毒素表面增强拉曼光谱检测体系的构建以及标准曲线的建立，

[0007] 所述的真菌毒素适配体修饰的金@DTNB@银核壳纳米三角的制备，步骤1) 金纳米三角的制备：采用三步金种子诱导法合成金纳米三角，

[0008] 金种子溶液1：

[0009] 25 $\mu$ L、0.05M的HAuCl<sub>4</sub>溶液加入到4.7mL、0.1M的CTAC溶液中，强烈搅拌条件下加入300 $\mu$ L新鲜制备的0.01M的NaBH<sub>4</sub>溶液中，将其放在室温下3h除去过量的NaBH<sub>4</sub>；

[0010] 金种子溶液2：1.6mL、0.1M的CTAC溶液用8mL的超纯水稀释，加入40 $\mu$ L、0.05M的HAuCl<sub>4</sub>溶液，快速加入0.01M、15 $\mu$ L的碘化钠溶液；

[0011] 生长溶液：1mL、0.05M的HAuCl<sub>4</sub>溶液加入到80mL、0.05M的CTAC溶液中，快速加入0.01M、600 $\mu$ L的碘化钠溶液；

[0012] 种子溶液生长：将金种子溶液1用0.1M的CTAC溶液稀释10倍，40 $\mu$ L、0.1M的抗坏血酸和800 $\mu$ L、0.1M的抗坏血酸分别加入到种子溶液2和生长溶液中，将200 $\mu$ L上述稀释的金种子溶液1加入到金种子溶液2，快速摇匀，将6.4mL快速加入到生长溶液中，手动搅拌几秒，室温放置1h；金纳米三角的纯化：40mL上述合成的金三角溶液加入6mL、25wt%的CTAC溶液，室温下反应12h，去除上清液，沉淀重新分散在10mL、0.1M的CTAC溶液中，得到纯化后的金三角溶液。

[0013] 步骤2) 金@DTNB@银核壳纳米三角的制备：将10mL上述制备的金纳米三角溶液在6000rpm、20min条件下离心两次，用去离子水清洗，除去过量的CTAC溶液，沉淀重新分散到10mL去离子水中，向上述溶液中加入20 $\mu$ L、0.01M的DTNB乙醇溶液，室温下磁力搅拌2h；将上述溶液离心去除未连接的DTNB，重新分散到相同体积的去离子水中；2mL上述合成的金@DTNB纳米三角在强烈搅拌条件下加入0.04mM、4mL的CTAC溶液中，混和均匀后依次加入150mL、0.1M的抗坏血酸，30mL、10mM的硝酸银，250mL、0.1M的氢氧化钠，混合均匀，溶液在3min内逐渐变色表明生成了金@DTNB@银核壳纳米三角。

[0014] 步骤3) 真菌毒素适配体修饰的金@DTNB@银核壳纳米三角的制备：上述合成的金@DTNB@银核壳纳米三角，离心分离纯化两次，用去离子水清洗，最终分散到2mL、PH=7.4的PBS缓冲溶液中。用磷酸三氯乙酯 (TCEP) 的Tris-HCl溶液活化巯基修饰的真菌毒素适配体链上的巯基，将上述活化的适配体加入金@DTNB@银核壳纳米三角溶液中，室温下孵育12h，加入牛血清蛋白 (BSA) 溶液，封闭纳米棒上未被适配体连接的活性位点，最后离心分离，重新分散到相同体积的PBS缓冲溶液中，待用。

[0015] 上述的一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法，所述的真菌毒素适配体修饰的壳聚糖包覆的四氧化三铁磁性材料 (CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) 磁性材料的制备，具体包括：

[0016] 步骤1) 壳聚糖四氧化三铁磁性材料 (CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) 磁性材料的制备：0.82g三氯化铁强烈搅拌下溶于40mL乙二醇中，强烈搅拌直至溶液变澄清，3.6g无水醋酸钠和0.5g壳聚糖，在连续搅拌条件下加入上述溶液，搅拌持续30min，反应结束后溶液转移到50mL聚四氟乙烯内衬的高压反应釜中，反应釜放在200℃恒温箱里反应12h，反应结束，冷却到室温，磁分离，乙

醇清洗三次,60℃恒温箱干燥5h,产物密封放在4℃冰箱备用。

[0017] 步骤2) 真菌毒素适配体修饰的壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料的制备:2mg上述合成的壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料超声分散在1mL,5%的戊二醛溶液中,1mL,5uM的氨基修饰的真菌毒素适配体链的PBS溶液加入上述混合溶液,室温孵育4h,反应结束后加入加入牛血清蛋白(BSA)溶液封闭磁性材料上未连接的活性位点,上述溶液用2mL水和2mL Tris-HCl缓冲溶液清洗,最终分散在2mL的Tris-HCl缓冲溶液中,备用。

[0018] 上述的一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,所述的表面增强拉曼光谱检测体系的构建:在上述合成的真菌毒素适配体修饰的壳聚糖包覆的四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料100uL中加入100uL不同浓度的真菌毒素(0.0,0.001,0.01,0.1,1.0,10.0,100,1000ng/mL),室温下孵育2h,反应结束后,加入上述合成的真菌毒素适配体链修饰的金@DTNB@银核壳纳米三角溶液200uL,充分混合后室温下孵育6h,磁分离去除上清液,沉淀重新分散到100uL的Tris-HCl缓冲溶液中。用拉曼光谱仪在780nm激光激发下采集不同浓度真菌毒素组装体系的拉曼信号,从而建立组装体拉曼信号强度和对应真菌毒素浓度间的标准曲线。

[0019] 与现有的技术相比,本发明的优点在于:

[0020] 1. 本发明所制备的表面增强拉曼基底为DTNB标记的金纳米三角为内核的金@DTNB@银核壳纳米三角复合材料,合成的金纳米三角边长为100±10nm,同时,将银壳层包覆在金纳米三角外,银壳层厚度为10±5nm。

[0021] 2. 本发明所制备的金纳米三角通过在种子溶液和生长溶液中快速加入碘化钠来增加金纳米三角的产率,通过在每40mL金纳米三角溶液中加入6mL,25%质量分数的DTAC来纯化金纳米三角。

[0022] 3. 本发明采用三步金种子诱导法合成粒径均一的金纳米三角,金种子溶液1合成后室温下放置3h,除去过量的硼氢化钠再进行下一步的金纳米三角的生长。

[0023] 4. 本发明将具有大散射截面和没有荧光信号干扰的DTNB标记分子标记于金纳米三角和银壳层之间,使得拉曼信号免受外界环境的干扰,是目标分子的拉曼信号通过DTNB信号分子的峰体现出来,提高了拉曼信号的稳定性及重复性。

[0024] 5. 本发明制备的金纳米三角,金@DTNB@银核壳纳米三角及壳聚糖包覆的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料通过透射电镜表征。

### 【附图说明】

[0025] 图1为本发明涉及的金纳米三角(A),金@DTNB@银核壳纳米三角(B)和壳聚糖包覆的四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料(C、D)透射电镜表征图;

[0026] 图2为本发明实施例中黄曲霉毒素B1标准曲线检测的拉曼光谱图(A)和标准曲线(B);

### 具体实施方式

[0027] 实施实例1

[0028] 为了进一步验证本发明所制备检测方法对食品中真菌毒素检测的灵敏性,本发明

实例,以黄曲霉毒素B1为例,具体操作步骤如下:

[0029] 步骤1) 金纳米三角形的制备:采用三步金种子诱导法合成金纳米三角,具体的:

[0030] 金种子溶液1:

[0031] 25 $\mu$ L,0.05M的HAuCl<sub>4</sub>溶液加入到4.7mL,0.1M的CTAC溶液中,强烈搅拌条件下加入300 $\mu$ L新鲜制备的0.01M的NaBH<sub>4</sub>溶液中,将其放在室温下3h除去过量的NaBH<sub>4</sub>;

[0032] 金种子溶液2:1.6mL,0.1M的CTAC溶液用8mL的超纯水稀释,加入40 $\mu$ L,0.05M的HAuCl<sub>4</sub>溶液,快速加入0.01M,15 $\mu$ L的碘化钠溶液;

[0033] 生长溶液:1mL,0.05M的HAuCl<sub>4</sub>溶液加入到80mL,0.05M的CTAC溶液中,快速加入0.01M,600 $\mu$ L的碘化钠溶液;

[0034] 种子溶液生长:将金种子溶液1用0.1M的CTAC溶液稀释10倍,40 $\mu$ L,0.1M的AA和800 $\mu$ L,0.1M的抗坏血酸分别加入到种子溶液2和生长溶液中,将200 $\mu$ L上述稀释的金种子溶液1加入到金种子溶液2,快速摇匀,将6.4mL快速加入到生长溶液中,手动搅拌几秒,室温放置1h;

[0035] 金纳米三角形的纯化:40mL上述合成的金三角溶液加入6mL,25wt%的CTAC溶液,室温下反12h,去除上清液,沉淀重新分散在10mL,0.1M的CTAC溶液中,得到纯化后的金纳米三角溶液,图1(A)为金纳米三角透射电镜表征图。

[0036] 步骤2) 金@DTNB@银核壳纳米三角形的制备:将10mL上述步骤1)制备的金纳米三角溶液在6000rpm、20min条件下离心两次,用去离子水清洗,除去过量的CTAC溶液,沉淀重新分散到10mL去离子水中,向上述溶液中加入20 $\mu$ L,0.01M的DTNB乙醇溶液,室温下磁力搅拌2h;将上述溶液离心去除未连接的DTNB,重新分散到相同体积的去离子水中;2mL上述合成的金@DTNB纳米三角在强烈搅拌条件下加入0.04mM,4mL的CTAC溶液中,混和均匀后依次加入150mL,0.1M的抗坏血酸,30mL,10mM的硝酸银,250mL,0.1M的氢氧化钠,混合均匀,溶液在3min内逐渐变色表明生成了金@DTNB@银核壳纳米三角,如图1(B)为金@DTNB@银核壳纳米三角透射电镜表征图。

[0037] 步骤3) AFB1适配体修饰的金@DTNB@银核壳纳米三角形的制备:将上述步骤2)合成的金@DTNB@银核壳纳米三角,离心分离纯化两次,用去离子水清洗,最终分散到2mL,PH=7.4的PBS缓冲溶液中。用磷酸三氯乙酯(TCEP)的Tris-HCl溶液活化巯基修饰的AFB1适配体链上的巯基,将上述活化的适配体加入金@DTNB@银核壳纳米三角溶液中,室温下孵育12h,加入牛血清蛋白(BSA)溶液,封闭纳米棒上未被适配体连接的活性位点,最后离心分离,重新分散到相同体积的PBS缓冲溶液中,待用。

[0038] 巯基基修饰的AFB1适配体链:5'-SH-GTTGG GCA CGT GTT GTC TCT CTG TGT CTC GTG CCC TTC GCT AGG CCC-3' ;

[0039] 步骤4) 壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料的制备:0.82g三氯化铁强烈搅拌下溶于40mL乙二醇中,强烈搅拌直至溶液变澄清,3.6g无水醋酸钠和0.5g壳聚糖,在连续搅拌条件下加入上述溶液,搅拌持续30min,反应结束后溶液转移到50mL聚四氟乙烯内衬的高压反应釜中,发应釜放在200 $^{\circ}$ C恒温箱里反应12h,反应结束,冷却到室温,磁分离,乙醇清洗三次,60 $^{\circ}$ C恒温箱干燥5h,产物密封放在4 $^{\circ}$ C冰箱备用,图1(C、D)为壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料透射电镜表征图。

[0040] 步骤5) AFB1适配体修饰的壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料的制

备:2mg上述合成的壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)超声分散在1mL,5%的戊二醛溶液中,1mL,5uM的氨基修饰的AFB1适配体链的PBS溶液加入上述混合溶液,室温孵育4h,反应结束后加入加入牛血清蛋白(BSA)溶液封闭磁性材料上未连接的活性位点,上述溶液用2mL水和2mL,Tris-HCl缓冲溶液清洗,最终分散在2mL的Tris-HCl缓冲溶液中,备用。

[0041] 氨基修饰的AFB1适配体链:5'-GTTGG GCA CGT GTT GTC TCT CTG TGT CTC GTG CCC TTC GCT AGG CCC-NH<sub>2</sub>-3' ;

[0042] 步骤6)表面增强拉曼光谱检测体系的构建:在上述步骤5)合成的AFB1适配体修饰的壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料100μL中加入100μL不同浓度的真菌毒素(0.0,0.001,0.01,0.1,1.0,10.0,100,1000ng/mL),室温下孵育2h,反应结束后,加入上述合成的AFB1适配体链修饰的金@DTNB@银核壳纳米三角溶液200μL,充分混合后室温下孵育6h,磁分离去除上清液,沉淀重新分散到100μL的Tris-HCl缓冲溶液中。用拉曼光谱仪在780nm激光激发下采集不同真菌毒素浓度组装体系的拉曼信号,从而建立组装体拉曼信号强度和对应真菌毒素浓度间的标准曲线,如图2为黄曲霉毒素B1标准曲线检测的拉曼光谱图(A)和标准曲线(B)。

[0043] 综上,本发明制备的一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法,该方法合成了5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)信号分子标记的金@DTNB@银核壳纳米三角表面拉曼增强基剂,同时,合成了壳聚糖四氧化三铁磁性材料(CS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)磁性材料,在增强剂和磁性材料上修饰真菌毒素适配体链,当检测体系中有真菌毒素存在时,增强剂和磁性材料会通过适配体的特异性识别作用结合在一起,随着真菌毒素浓度的改变,磁性分离后,检测体系的拉曼信号强度改变,实现食品中真菌毒素的定量检测的目的;该方法适用于食品安全、材料化学等技术领域。

[0044] 所述实施例为本发明的优选的实施方式,但本发明并不限于上述实施方式,在不背离本发明的实质内容的前提下,本领域技术人员能够做出的任何显而易见的改进、替换或变型均属于本发明的保护范围。

## SEQUENCE LISTING

<110> 江苏大学

<120> 一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法

<130> 一种基于适配体修饰的金@DTNB@银纳米三角的真菌毒素检测方法

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 1

gttgggcacg tgttgtctct ctgtgtctcg tgcccttcgc taggccc 47

<210> 2

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 2

gttgggcacg tgttgtctct ctgtgtctcg tgcccttcgc taggccc 47

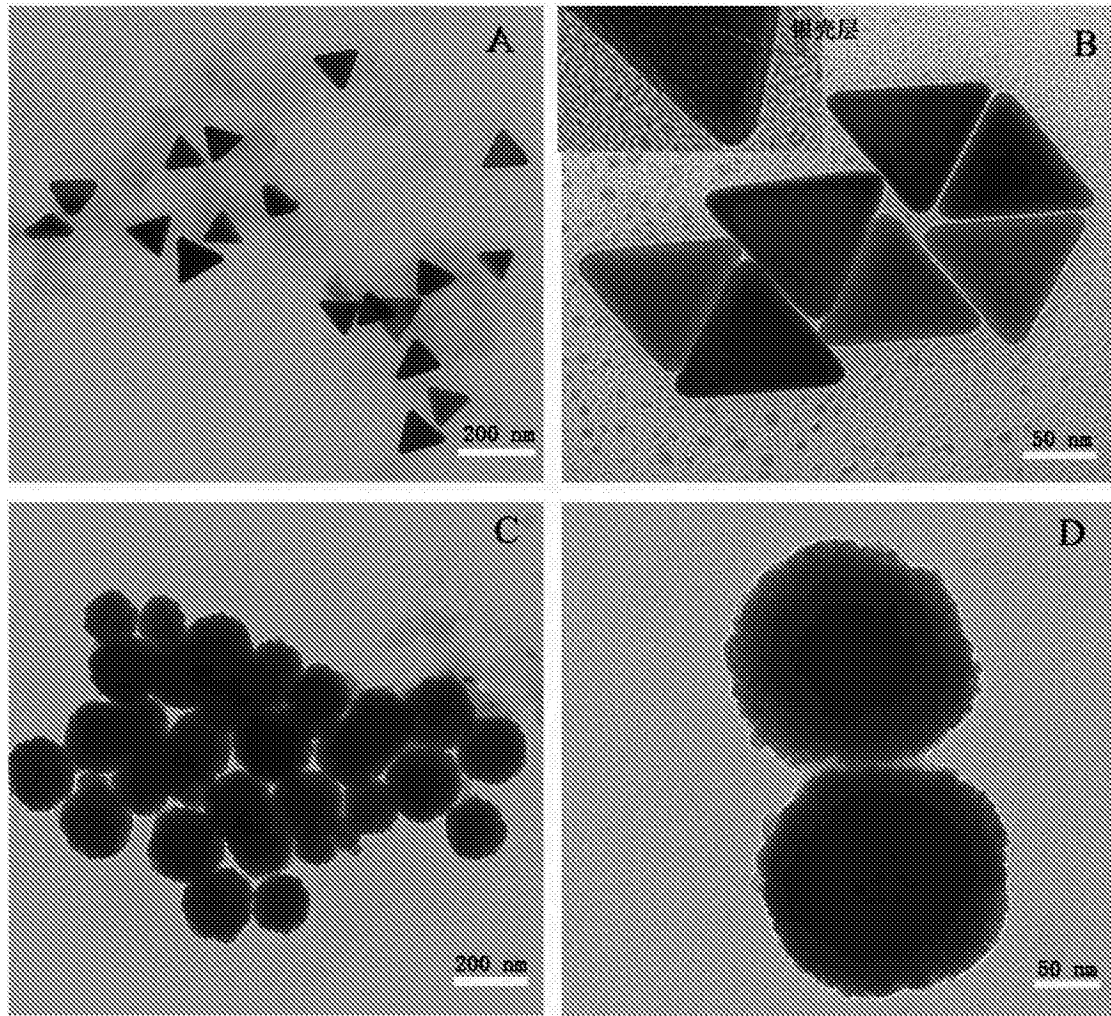


图1

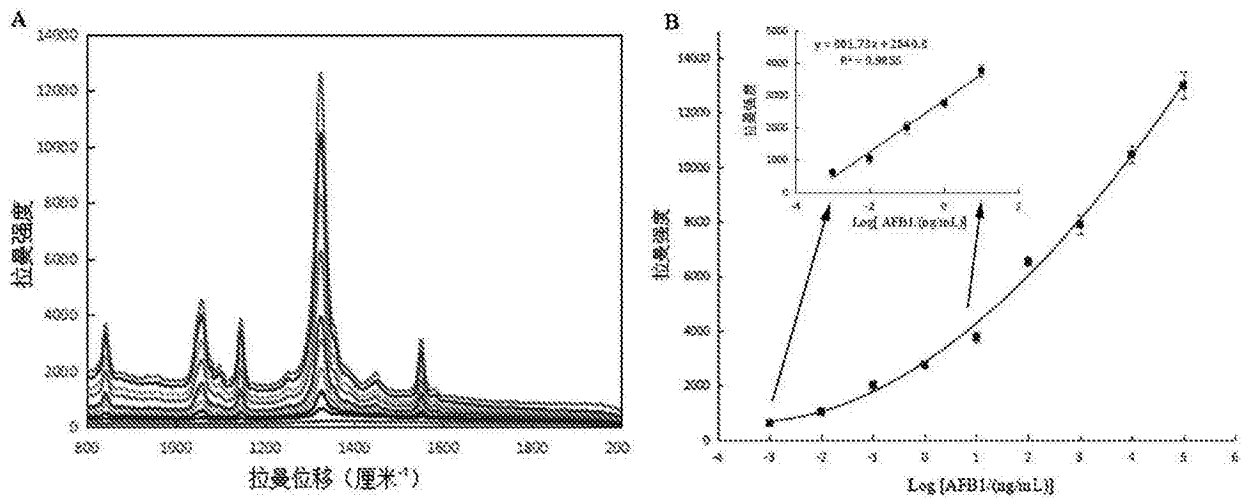


图2