【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成23年7月28日(2011.7.28)

【公表番号】特表2010-530241(P2010-530241A)
【公表日】平成22年9月9日(2010.9.9)
【年通号数】公開・登録公報2010-036
【出願番号】特願2010-512842(P2010-512842)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　1/12　(2006.01)
Ｃ１２Ｐ　23/00　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　1/12　Ａ
Ｃ１２Ｐ　23/00

【手続補正書】
【提出日】平成23年6月9日(2011.6.9)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
下記の工程を含むことを特徴とするカロチノイドに富んだ金黄色の藻類の培養方法。
（ａ）０．１～０．１５ｇ／Ｌの炭素源及び０．０６～０．３５ｇ／Ｌの窒素源を含む培地中で５～７日間、藻類を培養する；
（ｂ）上記（ａ）工程を終了後、培地中の炭素源の濃度を０．２～１．５ｇ／Ｌに増大させ、かつ窒素源の濃度を０．００５～０．０３ｇ／Ｌに低下させて藻類を５～７日間培養する；
（ｃ）上記（ｂ）工程の間、培地を高炭素栄養剤により周期的に助成する；
（ｄ）上記（ｃ）工程の後に生成した藻類を収集する。
【請求項２】
前記培養される藻類が、スピルリナ（Spirulina）属、オシアトリア属（Oscillatoria）、ノストック（Nostoc）、フォルミジウム（Phormidium）、アフィノゼマノンーフロスアクア属（Aphinozemanon-flosaquae）及びアナベナ属（anabaena）から選ばれる請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記炭素源が、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、及びその組み合わせから選ばれる請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記窒素源が、硝酸ナトリウム、硫酸アンモニム、及びその組み合わせから選ばれる請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記高炭素有機栄養剤が、クエン酸塩化合物、酢酸塩化合物クエン酸塩化合物クエン酸塩化合物、及びその組み合わせから選ばれる請求項１に記載の方法。
【請求項６】
下記の工程を含むことを特徴とするカロチノイドに富んだ藻類バイオマスの生産方法。
（ａ）０．１～０．１５ｇ／Ｌの炭素源及び０．０６～０．３５ｇ／Ｌの窒素源を含む培地中で５～７日間、藻類を培養する；

（ｂ）上記（ａ）工程を終了後、培地中の炭素源の濃度を０．２～１．５ｇ／Ｌに増大させ、かつ窒素源の濃度を０．００５～０．０３ｇ／Ｌに低下させて藻類を５～７日間培養する；
（ｃ）上記（ｂ）工程の間、培地を高炭素栄養剤により周期的に助成する；
（ｄ）上記（ｃ）工程の後に生成した藻類を収集する。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１４】
本発明は、以下の要旨を有する。
１．下記の工程を含むことを特徴とするカロチノイドに富んだ金黄色の藻類の培養方法。
（ａ）０．１～０．１５ｇ／Ｌの炭素源及び０．０６～０．３５ｇ／Ｌの窒素源を含む培地中で５～７日間、藻類を培養する；
（ｂ）上記（ａ）工程を終了後、培地中の炭素源の濃度を０．２～１．５ｇ／Ｌに増大させ、かつ窒素源の濃度を０．００５～０．０３ｇ／Ｌに低下させて藻類を５～７日間培養する；
（ｃ）上記（ｂ）工程の間、培地を高炭素栄養剤により周期的に助成する；
（ｄ）上記（ｃ）工程の後に生成した藻類を収集する。
２．前記培養される藻類が、スピルリナ（Spirulina）属、オシアトリア属（Oscillatoria）、ノストック（Nostoc）、フォルミジウム（Phormidium）、アフィノゼマノンーフロスアクア属（Aphinozemanon-flosaquae）及びアナベナ属（anabaena）から選ばれる上記１に記載の方法。
３．前記培養に使用されるスピルリナ属が、Ｓ．プラテンシス(platensis)、Ｓ．マキシマ(maxima)、Ｓ．フシフォルミス（fusiformis）、Ｓ．パシフィカ(pacifica)、Ｓ．インジカ(indica)、Ｓ．マサルテイ(Massartii)、Ｓ．ジェネリ(jenneri)、及びＳ．サブサラ(Subsala)から選ばれる上記２に記載の方法。
４．前記スピルリナ属がＳ．プラテンシスである上記３に記載の方法。
５．前記炭素源が、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、及びその組み合わせから選ばれる上記１に記載の方法。
６．前記窒素源が、硝酸ナトリウム、硫酸アンモニム、及びその組み合わせから選ばれる上記１に記載の方法。
７．前記高炭素有機栄養剤が、クエン酸塩化合物、酢酸塩化合物クエン酸塩化合物クエン酸塩化合物、及びその組み合わせから選ばれる上記１に記載の方法。
８．前記クエン酸塩化合物が、５ｍｇ／Ｌ～１０ｍｇ／Ｌのクエン酸第二鉄である上記７に記載の方法。
９．前記クエン酸塩化合物が、５ｍｇ／Ｌ～１０ｍｇ／Ｌのクエン酸ナトリウムである上記７に記載の方法。
１０．前記酢酸塩化合物が、７５ｍｇ／Ｌ～２５０ｍｇ／Ｌの酢酸カリウムである上記７に記載の方法。
１１．前記酢酸塩化合物が、７５ｍｇ／Ｌ～２５０ｍｇ／Ｌの酢酸ナトリウムである上記７に記載の方法。
１２．前記培地が、さらに、リン酸水素ニカリウム、硫酸カリウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウム、硫酸第一鉄、Mn、Zn、Co、Cu、Moなどの周期表のＡ５族元素、又は塩化ナトリウムを含上記１に記載の方法。
１３．前記工程（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）を６～３６℃の範囲の温度で行う上記１に記載の方法。
１４．前記工程（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）を１～１００Ｋｌｕｘの範囲の光強度で行う上記１に記載の方法。

１５．前記工程（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）を８．２～１０．８の範囲のｐＨで行う上記１に記載の方法。
１６．前記培地の深さが少なくとも５ｃｍである上記１に記載の方法。
１７．乾燥セルあたり、少なくとも６００ｍｇ／ｇｍの混合カロチノイドを含んでいる上記１～１６のいずれかに記載の方法を使用して生産されたカロチノイドに富んだ金黄色の藻類。
１８．１００ｇｍの乾燥セルあたり、６００ｍｇ～１２００ｍｇの範囲の混合カルチノイドを含んでいる上記１７に記載のカロチノイドに富んだ金黄色の藻類。
１９．さらに、１００ｇｍの乾燥セルあたり、４００００ｍｇ～６００００ｍｇの範囲の炭水化物を含んでいる上記１７に記載のカロチノイドに富んだ金黄色の藻類。
２０．前記藻類が、混合カロチノイドを生成できる藻類から培養される上記１７に記載に富んだ金黄色の藻類。
２１．前記藻類が、スピルリナ属、オシアトリア属、ノストック、フォルミジウム、アフィノゼマノンーフロスアクア属及びアナベナ属から選ばれる藍藻類から培養される上記１７に記載に富んだ金黄色の藻類。
２２．前記スピルリナ属が、Ｓ．プラテンシス、Ｓ．マキシマ、Ｓ．フシフォルミス、Ｓ．パシフィカ、Ｓ．インジカ、Ｓ．マサルテイ、Ｓ．ジェネリ、及びＳ．サブサラから選ばれる上記２１に記載に富んだ金黄色の藻類。
２３．前記スピルリナ属から選ばれた藻が、好ましくはＳ．プラテンシスである上記２２に記載に富んだ金黄色の藻類。
２４．下記の工程を含むことを特徴とするカロチノイドに富んだ藻類バイオマスの生産方法。
（ａ）０．１～０．１５ｇ／Ｌの炭素源及び０．０６～０．３５ｇ／Ｌの窒素源を含む培地中で５～７日間、藻類を培養する；
（ｂ）上記（ａ）工程を終了後、培地中の炭素源の濃度を０．２～１．５ｇ／Ｌに増大させ、かつ窒素源の濃度を０．００５～０．０３ｇ／Ｌに低下させて藻類を５～７日間培養する；
（ｃ）上記（ｂ）工程の間、培地を高炭素栄養剤により周期的に助成する；
（ｄ）上記（ｃ）工程の後に生成した藻類を収集する。
２５．前記培養される藻類が、スピルリナ属、オシアトリア属、ノストック、フォルミジウム、アフィノゼマノンーフロスアクア属及びアナベナ属から選ばれる上記２４に記載の方法。
２６．前記培養に使用されるスピルリナ属が、Ｓ．プラテンシス、Ｓ．マキシマ、Ｓ．フシフォルミス）、Ｓ．パシフィカ、Ｓ．インジカ、Ｓ．マサルテイ、Ｓ．ジェネリ、及びＳ．サブサラから選ばれる上記２５に記載の培養方法。
２７．前記スピルリナ属がＳ．プラテンシスである上記２６に記載の培養方法。
２８．前記炭素源が、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、及びその組み合わせから選ばれる上記２４に記載の培養方法。
２９．前記窒素源が、硝酸ナトリウム、硫酸アンモニム、及びその組み合わせから選ばれる上記２４に記載の培養方法。
３０．前記高炭素有機栄養剤が、クエン酸塩化合物、酢酸塩化合物クエン酸塩化合物クエン酸塩化合物、及びその組み合わせから選ばれる上記２４に記載の培養方法。
３１．前記クエン酸塩化合物が、５ｍｇ／Ｌ～１０ｍｇ／Ｌのクエン酸第二鉄である上記３０に記載の培養方法。
３２．前記クエン酸塩化合物が、５ｍｇ／Ｌ～１０ｍｇ／Ｌのクエン酸ナトリウムである上記３０に記載の培養方法。
３３．前記酢酸塩化合物が、７５ｍｇ／Ｌ～２５０ｍｇ／Ｌの酢酸カリウムである上記３０に記載の培養方法。
３４．前記酢酸塩化合物が、７５ｍｇ／Ｌ～２５０ｍｇ／Ｌの酢酸ナトリウムである上記３０に記載の培養方法。

３５．前記培地が、さらに、リン酸水素ニカリウム、硫酸カリウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウム、硫酸第一鉄、Mn、Zn、Co、Cu、Moなどの周期表のＡ５族元素、又は塩化ナトリウムを含む上記２４に記載の培養方法。
３６．前記工程（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）を６～３６℃の範囲の温度で行う上記２４に記載の培養方法。
３７．前記工程（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）を１～１００Ｋｌｕｘの範囲の光強度で行う上記２４に記載の培養方法。
３８．前記工程（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）を８．２～１０．８の範囲のｐＨで行う上記２４に記載の培養方法。
３９．前記培地の深さが少なくとも５ｃｍである上記２４に記載の方法。
４０．上記２４～３９のいずれかに記載の方法を使用して生産されたカロチノイドに富んだ藻類バイオマス。
４１．前記藻類バイオマスが、１００ｇｍの乾燥セルあたり、６００ｍｇ～１２００ｍｇの範囲の混合カロチノイドを含んでいる上記４０に記載のカロチノイドに富んだ藻類バイマス。
４２．さらに、１００ｇｍｎｏ乾燥セルあたり、４００００ｍｇ～６００００ｍｇの範囲の炭水化物を含んでいる上記２６に記載のカロチノイドに富んだ藻類バイマス。
４３．前記藻類が、混合カロチノイドを生成できる藻類から培養される上記４０に記載の藻類バイマス。
４４．前記藻類が、スピルリナ属、オシアトリア属、ノストック、フォルミジウム、アフィノゼマノンーフロスアクア属及びアナベナ属から選ばれる藍藻類から培養され
上記４０に記載に富んだ藻類バイマス。
４５．前記スピルリナ属から選ばれた藻が、Ｓ．プラテンシス、Ｓ．マキシマ、Ｓ．フシフォルミス、Ｓ．パシフィカ、Ｓ．インジカ、Ｓ．マサルテイ、Ｓ．ジェネリ、及びＳ．サブサラである上記４４に記載に富んだ藻類バイオマス。
４６．前記スピルリナ属から選ばれた藻がＳ．プラテンシスである上記４５に記載に藻類バイオマス。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１５】
本発明の一つの態様によれば、以下の過程を含む。カロチノイドに富んだ金黄色の（golden yellow）藻類を培養する方法が提供される。低炭素濃度及び中程度の窒素濃度を有する培地中で、藻類を始めの５～７日間培養する過程；次いで、炭素の濃度を増大させ、かつ窒素の濃度を減少させて、その藻類を５～７日間培養する過程；炭素源の濃度を増加させた後、培地を周期的に高炭素の有機栄養剤を補充する過程；その後に、金黄色のカロチノイドに富んだ藻類を収集する過程。
培養に使用される藻類は、藍色の藻類の属（genus）から選択される。培養する間の培地中の窒素に対する炭素の割合を変え、また、培地を周期的にクエン酸塩や酢酸塩を補充することにより、カロチノイドの生産を高め、かつ、藍の藻類の色を金黄色に変えることになる。
本発明の別の態様は、以下の過程で培養されたカロチノイドに富んだ金黄色の藻類を提供する。低炭素及び高窒素を含む培地中で始めの５～７日間藻類を培養する；次いで、炭素の濃度を増大させ、かつ窒素の濃度を減少させて、藻類を５～７日間培養する；炭素源の濃度を増加させた後、培地を高炭素有機栄養剤を周期的に補充する；その後に、藻類のカロチノイド含有量が乾燥セルの１００ｇｍあたり少なくとも６００ｍｇである金黄色のカロチノイドに富んだ藻類を収集して得る。本発明の別の態様によれば、得られた藻類は、乾燥セルの１００ｇｍあたり６００ｍｇ～１２００ｍｇを含有する。