

【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 3 部門第 3 区分

【発行日】平成 27 年 3 月 26 日 (2015.3.26)

【公表番号】特表 2014-510166 (P2014-510166A)

【公表日】平成 26 年 4 月 24 日 (2014.4.24)

【年通号数】公開・登録公報 2014-021

【出願番号】特願 2013-553603 (P2013-553603)

【国際特許分類】

C 1 1 B 3/12 (2006.01)

C 1 2 P 7/64 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 R 1/645 (2006.01)

【F I】

C 1 1 B 3/12

C 1 2 P 7/64 Z N A

C 1 2 P 7/64

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 1/19

C 1 2 P 7/64

C 1 2 R 1:645

【手続補正書】

【提出日】平成 27 年 2 月 3 日 (2015.2.3)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 6 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 6 3】

抽出油の一部を、低温アセトンを使用して抽出油と溶媒との比を 1 : 1 . 5 として脱ガム処理した。アセトン脱ガム処理油は、880 mg のエルゴステロール / 油 100 g および 74 . 5 ppm のリンを含有した。

S P D 条件下での蒸留

アセトン脱ガム処理油を、実施例 1 B の方法論に従って短行程蒸留に供した（但し、蒸発器温度を 255 に設定した）。第 1 の通過の間に蒸留物はほぼ回収されなかった。それというのも、アセトン脱ガム処理油中にほとんど水が存在しなかったためである。第 2 の通過の間、約 12 重量 % の蒸留物が回収された。トリアシルグリセロール含有画分（すなわち、S P D 精製油）の最終エルゴステロールレベルは、106 mg / 100 g（アセトン脱ガム処理油のエルゴステロール含有率と比較してエルゴステロール含有率の約 88 % の低減）であり；S P D 精製油は、66 ppm のリンを含有した。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 6 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 6 4】

以上、本発明を要約すると下記のとおりである。

1 . ステロール含有微生物油組成物中のステロールの量を低減させる方法であって、

a) 短行程蒸留条件下で、ステロール含有微生物油を少なくとも1回蒸留することであって、前記油は、

(i) 1つ以上の多価不飽和脂肪酸を含むトリアシルグリセロール；および、

(ii) 少なくとも300mg/油100gのステロール画分；

を含み、

前記蒸留は、前記ステロールを含む蒸留物画分および短行程蒸留に供されていない前記ステロール含有微生物油組成物中のステロールの量と比較して低減した量のステロールを有するトリアシルグリセロール含有画分を生成すること；および

b) 場合により、前記トリアシルグリセロール含有画分を回収することを含む方法。

2. 前記短行程蒸留条件が、30mTorr以下の真空レベルおよび300 以下の温度におけるステロール含有微生物油の少なくとも1回の通過を含む、上記1に記載の方法。

3. 前記ステロール画分が、スチグマステロール、エルゴステロール、ブラシカステロール、カンベステロール、 $\alpha$ -シトステロールおよびデスモステロールからなる群から選択される1つ以上のステロールを含む、上記1に記載の方法。

4. 前記ステロール画分が、エルゴステロールを含む、上記3に記載の方法。

5. 前記トリアシルグリセロール含有画分中のステロールの量の低減が、前記ステロール含有微生物油組成物中のステロールの量と比較して少なくとも40%である、上記1に記載の方法。

6. 低減したステロール画分を有する前記トリアシルグリセロール含有画分が、短行程蒸留に供されていない前記ステロール含有微生物油組成物と比較して改善された澄清性を有する、上記1に記載の方法。

7. 前記温度が、280 以下である、上記2に記載の方法。

8. 前記ステロール含有微生物油組成物が、誘導結合プラズマ発光分光法により測定して20ppm未満のリンを有するリファインド脂質組成物である、上記1に記載の方法。

9. 前記ステロール含有微生物油組成物を、酵母、藻類、ユーグレナ類、ストラメノパイル菌類、またはそれらの混合物から得る、上記1に記載の方法。

10. 前記ステロール含有微生物油組成物を、モルティエレラ (*Mortierella*)、ヤブレツボカビ (*Thraustochytrium*)、シゾキトリウム (*Schizochytrium*)、ヤロウイア (*Yarrowia*)、カンジダ (*Candida*)、ロドトルラ (*Rhodotorula*)、ロドスポリジウム (*Rhodospiridium*)、クリプトコッカス (*Cryptococcus*)、トリコスポロン (*Trichosporon*)、およびリボマイセス (*Lipomyces*) からなる群から選択される属からの油性微生物から得る、上記9に記載の方法。

11. 前記ステロール含有微生物油組成物を、組換えヤロウイア (*Yarrowia*) 細胞の微生物バイオマスから得る、上記10に記載の方法。

12. 前記組換えヤロウイア (*Yarrowia*) 細胞が、リノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸、エイコサジエン酸、ジホモ- $\alpha$ -リノレン酸、アラキドン酸、ドコサテトラエン酸、 $\alpha$ -6ドコサペンタエン酸、 $\alpha$ -7ドコサペンタエン酸、ステアリドン酸、エイコサトリエン酸、エイコサテトラエン酸、 $\alpha$ -3ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸、およびそれらの混合物からなる群から選択される少なくとも1つの多価不飽和脂肪酸の生成について遺伝子操作されている、上記11に記載の方法。

13. 前記蒸留が、前記微生物油組成物の2回以上の連続短行程蒸留を含む、上記1に記載の方法。

14. それぞれの連続短行程蒸留が、直前の短行程蒸留よりも高い温度におけるものである、上記13に記載の方法。

【手続補正3】

【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】

ステロール含有微生物油組成物中のステロールの量を低減させる方法であって、

a) 短行程蒸留条件下で、ステロール含有微生物油を少なくとも 1 回蒸留することであって、前記油は、

( i ) 1 つ以上の多価不飽和脂肪酸を含むトリアシルグリセロール；および、

( ii ) 少なくとも 3 0 0 m g / 油 1 0 0 g のステロール画分；

を含み、

前記蒸留は、前記ステロールを含む蒸留物画分および短行程蒸留に供されていない前記ステロール含有微生物油組成物中のステロールの量と比較して低減した量のステロールを有するトリアシルグリセロール含有画分を生成すること；および

b) 場合により、前記トリアシルグリセロール含有画分を回収することを含む方法。