

【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28年6月9日(2016.6.9)

【公表番号】特表2015-521033(P2015-521033A)

【公表日】平成27年7月27日(2015.7.27)

【年通号数】公開・登録公報2015-047

【出願番号】特願2015-507197(P2015-507197)

【国際特許分類】

C 1 2 N	1/13	(2006.01)
C 1 2 P	7/64	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 2 3 L	33/10	(2016.01)
A 2 3 D	9/00	(2006.01)
A 2 3 D	7/00	(2006.01)
C 1 1 B	1/10	(2006.01)
C 1 1 C	3/00	(2006.01)
C 1 1 B	11/00	(2006.01)
C 1 0 L	1/02	(2006.01)
C 1 0 M	101/04	(2006.01)
C 1 0 M	177/00	(2006.01)
C 1 2 R	1/89	(2006.01)
C 1 0 N	70/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	1/13	Z N A
C 1 2 N	1/13	
C 1 2 P	7/64	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 N	15/00	A
A 2 3 L	1/30	Z
A 2 3 D	9/00	5 0 2
A 2 3 D	7/00	5 0 0
A 2 3 D	9/00	5 0 0
C 1 1 B	1/10	
C 1 1 C	3/00	
C 1 1 B	11/00	
C 1 0 L	1/02	
C 1 0 M	101/04	
C 1 0 M	177/00	
C 1 2 N	1/13	
C 1 2 R	1/89	
C 1 0 N	70/00	

**【手続補正書】**

【提出日】平成28年4月15日(2016.4.15)

**【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】**

場合により配列番号76と少なくとも65%のヌクレオチド配列同一性を有する23S rRNAを含み、場合により偏性従属栄養性であり、且つ場合により細胞が単一炭素源としてのショ糖上で成長することができるよう外來性ショ糖インペルターゼ遺伝子を含む、油產生微細藻類細胞であって、前記細胞が、活性LPAAT酵素をコードする外來遺伝子を含み、前記細胞が、トリグリセリドを含む油を產生し、前記油は、LPAAT活性によって：

- (a) 中鎖脂肪酸を含むトリグリセリドが高濃度化され；又は  
(b) 飽和-不飽和-飽和型のトリグリセリドが高濃度化される、細胞。

**【請求項2】**

前記油のトリグリセリドは、40、50、60、70、又は80%又はそれを超えるC8:0、C10:0、C12:0、C14:0、又はC16:0脂肪酸を含む、請求項1に記載の細胞。

**【請求項3】**

前記細胞は、

(a) 活性脂肪酸アシル-ACPチオエステラーゼをコードする外來遺伝子であって、場合により、前記油の前記トリグリセリドは、前記外因性LPAAT及びアシル-ACPチオエステラーゼが発現する結果として中鎖脂肪酸が70%より大きい割合だけ高濃度化される、外來遺伝子；

(b) 外因性KAS I又はKAS IV酵素をコードする働き又は内因性KAS I酵素の活性を低下させる働きをする組換え核酸；及び／又は

(c) FAME GC/FIDによるときリノール酸及びリノレン酸が合計5面積パーセント以下である油を生成するため、場合により調節可能なプロモーターによって、デルタ12脂肪酸デサチュラーゼの発現を低下させる働きをする核酸をさらに含む、請求項1又は2に記載の細胞。

**【請求項4】**

前記油は、SOS、POS、及び／又はPOPが高濃度化され、場合により、前記油は、少なくとも50%のSOS、場合により10%未満のSSSを含むトリグリセリドを含む、請求項1に記載の細胞。

**【請求項5】**

(a) ステアロイル-ACPデサチュラーゼ遺伝子、脂肪酸アシル-ACPチオエステラーゼ遺伝子、又は両方のノックアウト又はノックダウン；及び／又は

(b) -ケトアシルCoAシンターゼ活性を増加させる働きをする組換え核酸であって、場合により、前記 -ケトシルシンターゼ活性を増加させる働きをする核酸が、-ケトアシルCoAシンターゼをコードする外來遺伝子を含む、組換え核酸をさらに含む、請求項4に記載の細胞。

**【請求項6】**

(a) 油中のステアリン酸塩とオレイン酸塩との比が3:1±20%である；

(b) 前記油中のPOP、SOS、及びPOSが、合計で少なくとも30%含まれる；

(c) 前記油が少なくとも30%のPOSを含む；

(d) 前記油が、16%±20%のPOP、38%±20%のPOS、及び23%±2

0 %のS O Sを含む；及び／又は

(e) 前記油の前記脂肪酸プロフィールが1～4 %のアラキジン酸を含む、

請求項4又は5に記載の細胞。

**【請求項7】**

(a) 前記細胞が、リノール酸及びリノレン酸が合計5面積パーセント以下である油を生成するため、場合により調節可能なプロモーターによって、デルタ12脂肪酸デサチュラーゼの発現を低下させる働きをする核酸をさらに含む；

(b) 前記油が、65 %超のS O S、45 %未満の不飽和脂肪酸、5 %未満の多価不飽和脂肪酸、1 %未満のラウリン酸、及び2 %未満のトランス脂肪酸を有する；及び／又は

(c) 前記L P A A Tが、配列番号78若しくは配列番号79のアミノ酸配列又は配列番号78若しくは配列番号79と少なくとも95 %の同一性を有する配列を有する、  
請求項4～6のいずれか一項に記載の細胞。

**【請求項8】**

Prototheca属の細胞であり、場合によりPrototheca moriformis種の細胞である、請求項1～7のいずれか一項に記載の細胞。

**【請求項9】**

請求項1～8のいずれか一項に記載の細胞を提供又は培養する工程と、前記油を抽出する工程とを含む、油の生成方法であって、前記細胞が場合により従属栄養培養される、方法。

**【請求項10】**

請求項9により生成されるトリグリセリドを含む油であって、場合により、以下：

少なくとも10 %のエルゴステロール；

エルゴステロール及び-シトステロールであって、エルゴステロールと-シトステロールとの比は25：1より大きい、エルゴステロール及び-シトステロール；

エルゴステロール及びプラシカステロール；

エルゴステロール、プラシカステロール、及びポリフェラステロール；  
の1つ以上を含み、

場合により、-シトステロール、カンペステロール、及びスチグマステロールの1つ以上を含まない、油。

**【請求項11】**

(a) 前記油が多形結晶を形成し、場合により、前記結晶が2Lラメラ構造又は3Lラメラ構造を有し、あるいは(b)前記油が、多形結晶を形成し、場合により、前記結晶が2Lラメラ構造又は3Lラメラ構造を有する、請求項10に記載の油。

**【請求項12】**

(a) 前記トリグリセリドが、ステアリン酸塩とパルミチン酸塩との合計割合が、オレイン酸塩の割合に2.0を乗じたもの±40 %に等しいことを特徴とする脂肪酸プロフィールを有する；

(b) 前記油が、65 %超のS O Sトリグリセリド、45 %未満の不飽和脂肪酸、5 %未満の不飽和脂肪酸類、1 %未満のラウリン酸、及び2 %未満のトランス脂肪酸を有する；

(c) 前記脂肪酸プロフィールにおけるステアリン酸塩とパルミチン酸塩との合計割合がオレイン酸塩の割合の2倍±20 %であり、場合により、前記S n - 2プロフィールが少なくとも40 %のオレイン酸塩を有する；

(d) 前記油が、少なくとも40、50、60、70、80、又は90 %のS O Sである；ならびに／あるいは

(e) 前記油が、30～40の融解温度を有するロールイン用ショートニングであり、場合により、

(i) 多形結晶を含む；

(ii) 35で15 %未満の固体脂肪含有量を有する；及び／又は

(iii) 15～20 %のC 8～C 14脂肪酸、45～50 %のC 16以上の脂肪酸、

及び / 又は 30 ~ 25 % の不飽和脂肪酸を含む、

請求項 10 又は 11 に記載の油。

**【請求項 13】**

請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の油を使用して製造される食品、燃料又は化学製品。

**【請求項 14】**

配列番号 77 ~ 79 と少なくとも 90 % の同一性を有し、場合により、配列番号 77 ~ 79 と少なくとも 95 % の同一性又は少なくとも 98 % の同一性を有するタンパク質をコードする核酸を含む構築物、ベクター、染色体又は宿主細胞。

**【請求項 15】**

配列番号 80 ~ 85 又は遺伝子コードの縮重の理由で等価な配列と少なくとも 80 、 90 、 95 、 96 、 97 、 98 、又は 99 % の配列同一性を有する核酸を含む、請求項 14 に記載の構築物、ベクター、染色体、又は宿主細胞。

**【手続補正 2】**

**【補正対象書類名】**明細書

**【補正対象項目名】**0048

**【補正方法】**変更

**【補正の内容】**

**【0048】**

別の態様において、本発明は、配列番号 77 ~ 79 と少なくとも 90 % の同一性を有するタンパク質をコードする核酸を含む構築物、ベクター、染色体又は宿主細胞を提供する。ある場合には、核酸は、配列番号 77 ~ 79 と少なくとも 95 % の同一性を有するタンパク質をコードする。ある場合には、核酸は、配列番号 77 ~ 79 と少なくとも 98 % の同一性を有するタンパク質をコードする。ある場合には、核酸は、配列番号 80 ~ 85 又は遺伝子コードの縮重の理由で等価な配列と少なくとも 80 、 90 、 95 、 96 、 97 、 98 、又は 99 % の配列同一性を有する。

本発明は、例えば、以下の項目も提供する。

(項目 1)

場合により配列番号 76 と少なくとも 65 % のヌクレオチド配列同一性を有する 23S rRNA を含み、場合により偏性従属栄養性であり、且つ場合により細胞が单一炭素源としてのショ糖上で成長することができるよう外来性ショ糖インペルターゼ遺伝子を含む、油產生微細藻類細胞であって、前記細胞が、活性 L P A A T 酵素をコードする外来遺伝子を含み、前記細胞が、トリグリセリドを含む油を産生し、前記油は、L P A A T 活性によって：

(a) 中鎖脂肪酸を含むトリグリセリドが高濃度化され；又は

(b) 飽和 - 不飽和 - 飽和型のトリグリセリドが高濃度化される、

細胞。

(項目 2)

前記油のトリグリセリドは、40 、 50 、 60 、 70 、又は 80 % 又はそれを超える C8 : 0 、 C10 : 0 、 C12 : 0 、 C14 : 0 、又は C16 : 0 脂肪酸を含む、項目 1 に記載の細胞。

(項目 3)

前記細胞は、活性 F A T B アシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子をさらに含む、項目 1 又は 2 に記載の細胞。

(項目 4)

前記油の前記トリグリセリドは、前記外因性 L P A A T 及びアシル - A C P チオエステラーゼが発現する結果として中鎖脂肪酸が 70 % より大きい割合だけ高濃度化される、項目 3 に記載の細胞。

(項目 5)

前記細胞は、外因性 K A S I 又は K A S I V 酵素をコードする働き又は内因性 K A S I 酵素の活性を低下させる働きをする組換え核酸をさらに含む、項目 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 6 )

前記細胞は、F A M E G C / F I D によるときリノール酸及びリノレン酸が合計 5 面積パーセント以下である油を生成するため、場合により調節可能なプロモーターによって、デルタ 1 2 脂肪酸デサチュラーゼの発現を低下させる働きをする核酸をさらに含む、項目 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 7 )

前記油は、飽和 - 不飽和 - 飽和型のトリグリセリドが高濃度化される、項目 1 に記載の細胞。

(項目 8 )

前記油は、S O S 、P O S 、及び / 又は P O P が高濃度化される、項目 7 に記載の細胞。

(項目 9 )

前記油は、少なくとも 5 0 % の S O S 、場合により 1 0 % 未満の S S S を含むトリグリセリドを含む、項目 8 に記載の細胞。

(項目 1 0 )

ステアロイル - A C P デサチュラーゼ遺伝子、F a t A 遺伝子、又は両方のノックアウト又はノックダウンをさらに含む、項目 8 又は 9 に記載の細胞。

(項目 1 1 )

- ケトアシル C o A シンターゼ活性を増加させる働きをする組換え核酸をさらに含む、項目 7 ~ 9 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 1 2 )

前記 - ケトシルシンターゼ活性を増加させる働きをする核酸が、- ケトアシル C o A シンターゼをコードする外来遺伝子を含む、項目 1 1 に記載の細胞。

(項目 1 3 )

油中のステアリン酸塩とオレイン酸塩との比が 3 : 1 ± 2 0 % である、項目 7 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 1 4 )

前記油中の P O P 、S O S 、及び P O S が、合計で少なくとも 3 0 % 含まれる、項目 7 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 1 5 )

前記油が少なくとも 3 0 % の P O S を含む、項目 7 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 1 6 )

前記油が、1 6 % ± 2 0 % の P O P 、3 8 % ± 2 0 % の P O S 、及び 2 3 % ± 2 0 % の S O S を含む、項目 7 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 1 7 )

前記油の前記脂肪酸プロフィールが 1 ~ 4 % のアラキジン酸を含む、項目 7 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 1 8 )

前記細胞が、リノール酸及びリノレン酸が合計 5 面積パーセント以下である油を生成するため、場合により調節可能なプロモーターによって、デルタ 1 2 脂肪酸デサチュラーゼの発現を低下させる働きをする核酸をさらに含む、項目 7 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 1 9 )

前記油が、6 5 % 超の S O S 、4 5 % 未満の不飽和脂肪酸、5 % 未満の多価不飽和脂肪酸、1 % 未満のラウリン酸、及び 2 % 未満のトランス脂肪酸を有する、項目 7 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目20)

前記L P A A Tが、配列番号78若しくは配列番号79のアミノ酸配列又は配列番号78若しくは配列番号79と少なくとも95%の同一性を有する配列を有する、項目1~19のいずれか一項に記載の細胞。

(項目21)

項目1~20のいずれか一項に記載の細胞を提供又は培養する工程と、前記油を抽出する工程とを含む、油の生成方法であって、前記細胞が場合により従属栄養培養される、方法。

(項目22)

項目21により生成されるトリグリセリドを含む油。

(項目23)

少なくとも10%のエルゴステロール；  
エルゴステロール及び $\beta$ -シトステロールであって、エルゴステロールと $\beta$ -シトステロールとの比は25:1より大きい、エルゴステロール及び $\beta$ -シトステロール；  
エルゴステロール及びプラシカステロール；  
エルゴステロール、プラシカステロール、及びポリフェラステロール；  
の1つ以上を含み、

場合により、 $\beta$ -シトステロール、カンペステロール、及びスチグマステロールの1つ以上を含まない、項目22に記載の油。

(項目24)

前記油が多形結晶を形成する、項目22に記載の油。

(項目25)

前記結晶が2Lラメラ構造を有する、項目24に記載の油。

(項目26)

前記結晶が3Lラメラ構造を有する、項目24に記載の油。

(項目27)

前記油が、多形結晶を形成する、項目22に記載の油。

(項目28)

前記結晶が2Lラメラ構造を有する、項目24に記載の油。

(項目29)

前記結晶が3Lラメラ構造を有する、項目24に記載の油。

(項目30)

前記トリグリセリドが、ステアリン酸塩とパルミチン酸塩との合計割合が、オレイン酸塩の割合に2.0を乗じたもの±40%に等しいことを特徴とする脂肪酸プロフィールを有する、項目22~29のいずれか一項に記載の油。

(項目31)

前記油が、65%超のSOSトリグリセリド、45%未満の不飽和脂肪酸、5%未満の不飽和脂肪酸類、1%未満のラウリン酸、及び2%未満のトランス脂肪酸を有する、項目22~30のいずれか一項に記載の油。

(項目32)

前記脂肪酸プロフィールにおけるステアリン酸塩とパルミチン酸塩との合計割合がオレイン酸塩の割合の2倍±20%である、項目22~31のいずれか一項に記載の油。

(項目33)

前記S n - 2プロフィールが少なくとも40%のオレイン酸塩を有する、項目32に記載の油。

(項目34)

前記油が、少なくとも40、50、60、70、80、又は90%のSOSである、項目22~33のいずれか一項に記載の油。

(項目35)

前記油が、30~40の融解温度を有するロールイン用ショートニングである、項

目 22～33 のいずれか一項に記載の油。

(項目 36)

・多形結晶を含む、項目 35 に記載の油。

(項目 37)

35 で 15% 未満の固形脂肪含有量を有する、項目 35 又は 36 に記載の油。

(項目 38)

15～20% の C8～C14 脂肪酸、45～50% の C16 以上の脂肪酸、及び / 又は 30～25% の不飽和脂肪酸を含む、項目 35～37 のいずれか一項に記載の油。

(項目 39)

項目 22～38 のいずれか一項に記載の油を使用して製造される食品、燃料又は化学製品。

(項目 40)

天然油又は天然油から生成される RBD 油であって、3.5% 以下の飽和脂肪酸を含み、場合により 50% 超のオレイン酸及び / 又は 1% 超のパルミトレイン酸を含む油。

(項目 41)

0.1～3.5% の飽和脂肪酸を有する、項目 40 に記載の油。

(項目 42)

少なくとも 90% のオレイン酸を含む、項目 40 又は 41 に記載の油。

(項目 43)

少なくとも 3% の多価不飽和脂肪酸を含む、項目 42 に記載の油。

(項目 44)

場合により配列番号 76 と少なくとも 65% のヌクレオチド配列同一性を有する 23S rRNA を含み、且つ場合により偏性従属栄養性である油產生細胞であって、3.5% 以下の飽和脂肪酸を含む油を產生する細胞。

(項目 45)

前記細胞が Prototheca 属の細胞である、項目 44 に記載の細胞。

(項目 46)

FATA ノックアウト又はノックダウンをさらに含む、項目 44 に記載の細胞。

(項目 47)

パルミトイール - CoA からプラミトイール - CoA に不飽和化する活性を有する酵素をコードする外来遺伝子を含む、項目 44～46 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 48)

前記外来遺伝子が PAP 遺伝子である、項目 47 に記載の細胞。

(項目 49)

前記外来遺伝子が、パルミトイール -ACP に対するデサチュラーゼ活性を有する SAD 遺伝子である、項目 47 に記載の細胞。

(項目 50)

過剰発現した KASI 酵素をさらに含む、項目 44～49 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 51)

リノール酸及びリノレン酸が合計 5 面積パーセント以下である油を生成するため、場合により調節可能なプロモーターによって、デルタ 12 脂肪酸デサチュラーゼの発現を低下させる働きをする核酸をさらに含む、項目 44～50 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 52)

場合により精製、漂白、及び脱臭された、項目 44～51 のいずれか一項に記載の細胞によって產生される油であって、

・少なくとも 10% のエルゴステロール；

・エルゴステロール及び b - シトステロールであって、エルゴステロールと b - シトステロールとの比は 25 : 1 より大きい、エルゴステロール及び b - シトステロール；

・エルゴステロール及びブラシカステロール；及び

エルゴステロール、プラシカステロール、及びポリフェラステロール；  
の1つ以上を含み、

場合により、-シトステロール、カンペステロール、及びスチグマステロールの1つ以上を含まない油。

(項目53)

3.5%以下の飽和脂肪酸を有する油の生成方法であって、項目5～12のいずれか一項に記載の細胞を提供又は培養する工程と、前記細胞から前記油を抽出する工程とを含む方法。

(項目54)

項目53に記載の方法により生成された油を食品に添合する工程を含む、食品の製造方法であって、最終食品製品が3.5%以下の飽和脂肪を有する、方法。

(項目55)

場合により配列番号76と少なくとも65%のヌクレオチド配列同一性を有する23S rRNAを含み、且つ場合により偏性従属栄養性である組換え油產生細胞であって、活性ケトアシル-CoAシンターゼ酵素をコードする外来遺伝子を含む細胞。

(項目56)

20%超のエルカ酸を含む油を產生する、項目55に記載の細胞。

(項目57)

60%超のエルカ酸を含む油を產生する、項目56に記載の細胞。

(項目58)

少なくとも40%の油を含む、項目55～57のいずれか一項に記載の細胞。

(項目59)

Prototricha属の細胞であり、場合によりPrototricha moriformis種の細胞である、項目55～58のいずれか一項に記載の細胞。

(項目60)

少なくとも10%のエルゴステロール；

エルゴステロール及び-シトステロールであって、エルゴステロールと-シトステロールとの比は25:1より大きい、エルゴステロール及び-シトステロール；

エルゴステロール及びプラシカステロール；及び

エルゴステロール、プラシカステロール、及びポリフェラステロール

の1つ以上を含む、項目55～59のいずれか一項に記載の細胞によって產生される油であって、

場合により、-シトステロール、カンペステロール、及びスチグマステロールの1つ以上を含まない油。

(項目61)

項目60に記載の油から製造される化学品。

(項目62)

項目55～59のいずれか一項に記載の細胞を提供又は培養する工程と、前記細胞から油を抽出する工程とを含む、油の生成方法。

(項目63)

5%未満のリノール酸を有するトリアシルグリセロールプロフィールの油を產生するよう、デルタ12脂肪酸デサチュラーゼ遺伝子産物の活性を抑制する働きをする組換え核酸を含む組換え油產生細胞。

(項目64)

3%未満のリノール酸を有するトリアシルグリセロールプロフィールの油を產生する、項目63に記載の細胞。

(項目65)

2%未満のリノール酸を有するトリアシルグリセロールプロフィールの油を產生する、項目64に記載の細胞。

(項目66)

前記油を產生するため、リノール酸要求株であるか、又は環境条件によってデルタ12脂肪酸デサチュラーゼの活性が抑制され得る、項目63に記載の細胞。

(項目67)

調節可能なプロモーターが前記デルタ12脂肪酸デサチュラーゼ遺伝子に作動可能に連結していることにより、前記デルタ12脂肪酸デサチュラーゼを環境条件によって調節可能である、項目66に記載の細胞。

(項目68)

前記調節可能なプロモーターが、培地pH又は窒素濃度の変化により調節可能である、項目67に記載の細胞。

(項目69)

外因性KASII、LPAAT、又はFATB酵素を発現する働きをする組換え核酸をさらに含む、項目64～68のいずれか一項に記載の細胞。

(項目70)

ステアロイルACPデサチュラーゼ酵素の発現をノックアウト又はノックダウンする働きをする組換え核酸をさらに含む、項目64～69のいずれか一項に記載の細胞。

(項目71)

内在性FatAによりコードされるアシル-ACPチオエステラーゼの発現をノックアウト又はノックダウンする働きをする組換え核酸をさらに含む、項目64～70のいずれか一項に記載の細胞。

(項目72)

前記油が、110で、AOCS Cd 12b-92ランシマット試験条件下20時間までに未だ電気伝導度の変曲点に達しない安定性を有する、項目64～71のいずれか一項に記載の細胞。

(項目73)

前記油が、1050ppmのトコフェロール及び500pmのパルミチン酸アスコルビルを前記油に加えたとき、110で、AOCS Cd 12b-92ランシマット試験条件下5日間までに未だ電気伝導度の変曲点に達しない安定性を有する、項目64～71のいずれか一項に記載の細胞。

(項目74)

(a) 場合により配列番号76と少なくとも65%のヌクレオチド配列同一性を有する23S rRNAを含み、場合により偏性従属栄養性である組換え油產生細胞を提供する工程であって、前記細胞が、前記細胞によって作られる脂肪酸の量を環境条件の変化に応じて変える働きをする組換え核酸を含む、工程と；

(b) 細胞分裂させて細胞数を増加させるための、前記脂肪酸の合成に許容的な第1の環境条件下で前記細胞を培養する工程と；

(c) 前記組換え核酸のため、前記脂肪酸の合成が低下し、従って前記細胞により產生される前記油中の当該の脂肪酸の量が低下する第2の環境条件下で前記細胞を培養する工程と；

(d) 前記細胞から前記油を抽出する工程とを含む方法。

(項目75)

前記細胞が、前記油中のリノール酸の量を低下させるため、デルタ12脂肪酸デサチュラーゼの活性を低下させる働きをする外来核酸を含む、項目74に記載の方法。

(項目76)

前記リノール酸が、前記油中で少なくとも50、60、70、80、又は90%欠乏している、項目74又は75に記載の方法。

(項目77)

前記細胞が従属栄養培養される、項目74～76のいずれか一項に記載の方法。

(項目78)

前記細胞が微細藻類細胞である、項目74～77のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 9 )

前記細胞が、乾燥細胞重量基準で少なくとも 40、50、60、70、80、又は 90 %の油を产生する、項目 74～78 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 0 )

前記第 1 の環境条件が培養培地の第 1 の pH であり、前記第 2 の環境条件が第 2 の pH である、項目 74～79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 1 )

前記細胞からの抽出時、前記油が、110 で、AOCS Cd 12b-92 ランシマット試験条件下 20 時間までに未だ電気伝導度の変曲点に達しない安定性を有する、項目 74～80 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 2 )

前記細胞からの抽出時、前記油が、1050 ppm のトコフェロール及び 500 ppm のパルミチン酸アスクルビルを前記油に加えたとき、110 で、AOCS Cd 12b-92 ランシマット試験条件下 5 日間までに未だ電気伝導度の変曲点に達しない安定性を有する、項目 74～81 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 3 )

前記細胞が、KAS II 酵素をコードする外来遺伝子と、場合により FatA 遺伝子のノックアウト又はノックダウンとを含む、項目 74～82 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 4 )

前記細胞によって作られる脂肪酸の量を変える働きをする前記組換え核酸が、FAD 遺伝子を標的化する阻害性 RNA を含み、前記阻害性 RNA の產生が調節可能なプロモーターの制御下にある、項目 74～83 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 5 )

前記油が、60 % 超のオレイン酸と 3 % 未満の多価不飽和物とを含む脂肪酸プロファイルによって特徴付けられる、項目 83 又は 84 に記載の方法。

(項目 8 6 )

前記油が、70 % 超のオレイン酸と 2 % 未満の多価不飽和物とを含む脂肪酸プロファイルによって特徴付けられる、項目 85 に記載の方法。

(項目 8 7 )

前記油が、80 % 超のオレイン酸と 1 % 未満の多価不飽和物とを含む脂肪酸プロファイルによって特徴付けられる、項目 86 に記載の方法。

(項目 8 8 )

項目 74～87 のいずれか一項に記載の方法によって生成される油。

(項目 8 9 )

0.01～2 % のリノール酸と、(i) 80～95 % のオレイン酸又は (ii) 40 % 超の C8、C10、C12、C14 又は C16 脂肪酸とを含む、項目 88 に記載の油。

(項目 9 0 )

少なくとも 10 % のエルゴステロール；エルゴステロール及び b - シトステロールであって、エルゴステロールと b - シトステロールとの比は 25 : 1 より大きい、エルゴステロール及び b - シトステロール；

エルゴステロール及びプラシカステロール；及び  
エルゴステロール、プラシカステロール、及びポリフェラステロール  
の 1 つ以上をさらに含む、項目 88 又は 89 に記載の油。

(項目 9 1 )

項目 88～90 のいずれか一項に記載の油から生成される製品。

(項目 9 2 )

食品、燃料又は化学品である、項目 91 に記載の製品。

(項目 9 3 )

フライ油、潤滑油、洗浄溶剤、界面活性剤、発泡剤又は潤滑剤である、項目 91 に記載

の製品。

(項目94)

オレイン酸ダイマーである、項目91に記載の製品。

(項目95)

配列番号77～79と少なくとも90%の同一性を有するタンパク質をコードする核酸を含む構築物、ベクター、染色体又は宿主細胞。

(項目96)

配列番号77～79と少なくとも95%の同一性を有するタンパク質をコードする、項目95に記載の構築物、ベクター、染色体又は宿主細胞。

(項目97)

配列番号77～79と少なくとも98%の同一性を有するタンパク質をコードする、項目95に記載の構築物、ベクター、染色体又は宿主細胞。

(項目98)

配列番号80～85又は遺伝子コードの縮重の理由で等価な配列と少なくとも80、90、95、96、97、98、又は99%の配列同一性を有する核酸を含む、項目95～97のいずれか一項に記載の構築物、ベクター、染色体、又は宿主細胞。