

【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27年11月26日 (2015.11.26)

【公表番号】特表2013-533735(P2013-533735A)

【公表日】平成25年8月29日 (2013.8.29)

【年通号数】公開・登録公報2013-046

【出願番号】特願2013-512064(P2013-512064)

【国際特許分類】

C 1 2 N 1/13 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 7/64 (2006.01)

C 1 0 L 1/02 (2006.01)

C 1 0 M 101/04 (2006.01)

C 1 1 C 3/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 1/13

C 1 2 N 1/19 Z N A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 7/64

C 1 0 L 1/02

C 1 0 M 101/04

C 1 1 C 3/00

C 1 2 N 15/00 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成27年10月7日 (2015.10.7)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

外来核酸を含む微細藻類細胞であって、該外来核酸は、(a) ケトアシル - A C P 合成酵素をコードするか、または (b) 内在性ケトアシル - A C P 合成酵素を破壊するか、もしくははその発現を下方調節し、該微細藻類細胞は、プロトテカ (P r o t o t h e c a) 属の細胞である、微細藻類細胞。

【請求項 2】

アシル - A C P チオエステラーゼ、スクロースインベルターゼ、またはその両方をコードする 1 または 1 より多くの外来核酸を更に含む、請求項 1 に記載の細胞。

【請求項 3】

内在性デサチュラーゼを破壊するか、又はその発現を下方調節する外来核酸を更に含む、請求項 1 または 2 に記載の細胞。

【請求項 4】

前記内在性デサチュラーゼが、ステアロイル A C P デサチュラーゼおよびデルタ 1 2 脂肪酸デサチュラーゼからなる群から選択される、請求項 3 に記載の細胞。

【請求項 5】

前記 1 または 1 より多くの外来核酸が、
ウンベルラリア・カリフォルニカ (Umbellularia californica) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 203 または 285) ; シナモム・カンフォラ (Cinnamomum camphora) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2010 年 2 月 9 日に登録された GenBank # Q39473) ; ウンベルラリア・カリフォルニカ (Umbellularia californica) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2010 年 2 月 9 日に登録された GenBank # Q41635) ; ミリスティカ・フラグランサ (Myristica fragrans) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 224 または 222) ; エラエイス・ギネンシス (Elaeis guineensis) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 204 または 2010 年 3 月 11 日に登録された GenBank # AAD42220) ; ポプラス・トメントサ (Populus tomentosa) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 207) ; アラビドプシス・サリアナ (Arabidopsis thaliana) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 208、209 または 210) ; ゴシピウム・ヒルスツム (Gossypium hirsutum) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 211) ; クフェア・ランセオラタ (Cuphea lanceolata) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 212) ; クフェア・フッケリアナ (Cuphea hookeriana) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 202 または 197) ; クフェア・カロフィラ垂種メソステモン (Cuphea calophylla subsp. mesostemon) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 213) ; クフェア・ランセオラタ (Cuphea lanceolata) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2006 年 11 月 15 日に登録された GenBank # CAC19933) ; エラエイス・ギネンシス (Elaeis guineensis) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 206) ; ゴシピウム・ヒルスツム (Gossypium hirsutum) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 214) ; ヴィティス・ヴィニフェラ (Vitis vinifera) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 215) ; ガルシニア・マンゴスタナ (Garcinia mangostana) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2009 年 11 月 30 日に登録された GenBank # AAB51525) ; ブラシカ・ジュンセア (Brassica juncea) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 216) ; マフア・ロンギフォリア (Madhuca longifolia) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 217) ; ブラシカ・ナプス (Brassica napus) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2006 年 8 月 15 日に登録された GenBank # ABH11710) ; オリザ・サティバ (Oryza sativa) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 218、219 または 220) ; クフェア・フッケリアナ (Cuphea hookeriana) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2010 年 2 月 9 日に登録された GenBank # Q39513 または 2009 年 11 月 30 日に登録された GenBank # AAC49269) ; ウルムス・アメリカナ (Ulmus Americana) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2009 年 11 月 30 日に登録された GenBank # AAB71731) ; クフェア・ランセオラタ (Cuphea lanceolata) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (配列番号 221) ; クフェア・パルストリス (Cuphea palustris) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2009 年 11 月 30 日に登録された GenBank # AAC49180) ; イリス・ゲルマニカ (Iris germanica) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2010 年 3 月 11 日に登録された GenBank # AAG43858 または 2010 年 3 月 11 日に登録された GenBank # AAG43858.1) ; クフェア・パルストリス (Cuphea palustris) の脂肪族アシル - ACP チオエステラーゼ (2009 年 11 月 30 日に登録された GenBank # AAC49179) ; ミリスティカ・フラグランサ (Myristica

ca fragrans)の脂肪アシル - ACPチオエステラーゼ(2009年11月30日に登録されたGenBank # AAB71729または2009年11月30日に登録されたGenBank # AAB71729.1); クフェア・ライティー(Cuphea wrightii)の脂肪族アシル - ACOPチオエステラーゼ(配列番号183); リシナス・コムニス(Ricinus communis)の脂肪アシル - ACPチオエステラーゼ(配列番号198)、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアシルACPチオエステラーゼをコードする、請求項2に記載の細胞。

【請求項6】

前記1または1より多くの外来核酸が、カルタムス・ティンクトラス(Carthamus tinctorius)のチオエステラーゼ遺伝子(配列番号263)、エラエイス・ギネンシス(Elaeis guiniensis)のチオエステラーゼ遺伝子(配列番号261)、クフェア・フッケリアナ(Cuphea hookeriana)のチオエステラーゼ遺伝子(配列番号94、244または259)、又はブラシカ・ナプス(Brassica napus)のチオエステラーゼ遺伝子(配列番号255)を含む、請求項2に記載の細胞。

【請求項7】

前記外来核酸が、クフェア・フッケリアナ(Cuphea hookeriana)のKAS IV遺伝子(配列番号246)及びクフェア・ライティー(Cuphea wrightii)のFATB2遺伝子(配列番号278)を含む、請求項2に記載の細胞。

【請求項8】

前記外来核酸が、内在性KAS II遺伝子を破壊するように設計された構築物を含む、請求項1に記載の細胞。

【請求項9】

前記外来核酸が、クフェア・ライティー(Cuphea wrightii)のFATB2遺伝子(配列番号278)と、内在するSAD2B遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせを含む、請求項3に記載の細胞。

【請求項10】

前記外来核酸が、ウンベルラリア・カリフォルニカ(U. californica)のチオエステラーゼ遺伝子(配列番号92、251または285)と、内在するSAD2B遺伝子を破壊するよう設計された構築物との組み合わせを含む、請求項3に記載の細胞。

【請求項11】

前記外来核酸が、ガルシニア・マンゴスタナ(Garcinia mangostana)のチオエステラーゼ遺伝子(配列番号253)と、内在するSAD2B遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせを含む、請求項3に記載の細胞。

【請求項12】

前記外来核酸が、内在するSAD2B遺伝子を破壊するよう設計された、ウルムス・アメリカナ(U. americana)のチオエステラーゼ遺伝子(配列番号93、275)を含む、請求項3に記載の細胞。

【請求項13】

前記細胞が、プロトテカ・ウィッケルハミイ(Prototheca wickerhamii)、プロトテカ・スタグノラ(Prototheca stagnora)、プロトテカ・ポルトリセンシス(Prototheca portoricensis)、プロトテカ・モリフォルミス(Prototheca moriformis)、およびプロトテカ・ゾフィー(Prototheca zopfii)からなる群より選択される細胞である、請求項1～12のいずれか1項に記載の細胞。

【請求項14】

前記細胞が、プロトテカ・モリフォルミス(Prototheca moriformis)種の細胞である、請求項13に記載の細胞。

【請求項15】

前記外来核酸が、プロトテカ(Prototheca)での発現に対してコドン最適

化されている、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 1 6】

微細藻類トリグリセリド油組成物を製造する方法であって、本方法には

a . 培養培地中で、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の微細藻類細胞の集団を培養すること、及び

b . 該微細藻類細胞から該微細藻類トリグリセリド油組成物を単離することが工程として含まれる、方法。

【請求項 1 7】

油を基本とする産物を製造する方法であって、本方法には

a . 請求項 1 6 に記載の前記微細藻類トリグリセリド油組成物に対し、鹼化；メタセシス；酸加水分解；アルカリ加水分解；酵素加水分解；触媒的加水分解；加圧熱水による加水分解；脂質がグリセロールと脂肪酸に分解される触媒的加水分解反応；脂肪族窒素化合物が生成されるアミノ化反応；一塩基性及び二塩基性酸が生成されるオゾン分解反応；酵素分解及び加圧分解からなる群から選択されるトリグリセリド分解反応；加水分解反応の後の縮合反応；水素化処理反応；水素化処理反応と脱酸素反応、又は水素化処理反応の前若しくは水素化処理反応と同時の縮合反応；ガス除去反応；水素化分解反応、水素化、水素化 - 水素化分解の連続反応、水素化分解 - 水素化の連続反応及び水素化 - 水素化分解反応の組み合わせからなる群から選択される脱酸素反応；脱酸素反応の後の縮合反応；エステル化反応；インターエステル化反応；トランスエステル化反応；ヒドロキシル化反応；及びヒドロキシル化反応の後の縮合反応；

からなる群から選択される少なくとも 1 つの化学反応を施すこと；及び

b . 前記反応の産物を単離することが工程として含まれる、製造方法。

【請求項 1 8】

前記の油を基本とする産物が、石鹸、燃料、電解液、作動油、可塑剤、潤滑剤、伝熱流体、及び金属作動流体からなる群から選択される、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記の油を基本とする産物が、バイオディーゼル、再生可能ディーゼル、及びジェット燃料からなる群から選択される燃料製品である、請求項 1 7 に記載の方法。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 0 6

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 0 6】

本発明は、例えば、以下を提供する：

(項目 1)

トリグリセリド油を含む油産生微生物細胞であって、前記トリグリセリド油の前記脂肪酸プロファイルが、少なくとも約 1 % の C 8 : 0、少なくとも約 1 % の C 1 0 : 0、少なくとも約 1 % の C 1 2 : 0、少なくとも約 2 % の C 1 4 : 0、少なくとも約 3 0 % の C 1 6 : 0、少なくとも約 5 % の C 1 8 : 0、少なくとも約 6 0 % の C 1 8 : 1、約 7 % 未満の C 1 8 : 2 及び少なくとも約 3 5 % の飽和脂肪酸からなる群から選択される、油産生微生物細胞。

(項目 2)

前記油産生微生物細胞が外来遺伝子を含み、任意に、前記油産生微生物細胞の内在性デサチュラーゼが不活性化であるか、又はより弱い酵素活性を有するように変異した、項目 1 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 3)

前記トリグリセリド油の脂肪酸プロフィールが、天然に存在する油のトリグリセリドプロフィールに類似している、項目2に記載の油産生微生物細胞。

(項目4)

前記天然に存在する油が、カカオバター、ココナツ油、パーム油、パーム核油、シアバター牛脂及びラードからなる群から選択される、項目3に記載の油産生微生物細胞。

(項目5)

前記トリグリセリド油の脂肪酸プロフィールが、C8:0とC10:0の総合計量が少なくとも約10%であること、C10:0とC12:0及びC14:0の総合計量が少なくとも約50%であること、C16:0とC18:0とC18:1の総合計量が少なくとも約60%であること、C18:0とC18:1とC18:2の総合計量が少なくとも約60%であること、C14:0とC16:0とC18:0とC18:1の総合計量が少なくとも約60%であり、及びC18:1とC18:2の総合計量が約30%未満であることからなる群から選択されるプロフィールを含む、項目2に記載の油産生微生物細胞。

(項目6)

前記トリグリセリド油の脂肪酸プロフィールが、C8:0とC10:0の比は少なくとも約5:1、C10:0とC12:0の比は少なくとも約6:1、C12:0とC14:0の比は少なくとも約5:1、C14:0とC12:0の比は少なくとも約7:1、及びC14:0とC16:0の比は少なくとも約1:2からなる群から選択される脂肪酸比を含む、項目1に記載の油産生微生物細胞。

(項目7)

前記内在性デサチュラーゼが、ステアロイルACPデサチュラーゼおよびデルタ12脂肪酸デサチュラーゼからなる群から選択される、項目2に記載の油産生微生物細胞。

(項目8)

前記外来遺伝子が、アシル-ACPチオエステラーゼをコードする遺伝子からなる群から選択される、項目7に記載の油産生微生物細胞。

(項目9)

前記外来遺伝子が、*Umbellularia californica*の脂肪族-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号AAC49001); *Cinnamomum camphora*の脂肪族-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号Q39473); *Umbellularia californica*の脂肪族アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号Q41635); *Myristica fragrans*の脂肪族アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号AAB71729); *Myristica fragrans*の脂肪族アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号AAB71730); *Elaeis guineensis*の脂肪族アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号ABD83939); *Elaeis guineensis*の脂肪族アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号AAD42220); *Populus tomentosa*の脂肪族アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号ABC47311); *Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号NP_172327); *Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号CAA85387); *Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号CAA85388); *Gossypium hirsutum* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号Q9SQI3); *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号CAA54060); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号AAC72882); *Cuphea calophylla* subsp. *mesostemon* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ(GenBank寄託番号ABB71581); *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル-ACPチオエステラ

ーゼ (GenBank 寄託番号 CAC19933); *Elaeis guineensis* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAL15645); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 Q39513); *Gossypium hirsutum* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAD01982); *Vitis vinifera* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 CAN81819); *Garcinia mangostana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB51525); *Brassica juncea* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 ABI18986); *Madhuca longifolia* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAX51637); *Brassica napus* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 ABH11710); *Oryza sativa* (インディカ品種群) 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 EAY86877); *Oryza sativa* (ジャポニカ品種群) 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 NP_001068400); *Oryza sativa* (インディカ品種群) 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 EAY99617); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAC49269); *Ulmus americana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB71731); *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 CAB60830); *Cuphea palustris* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAC49180); *Iris germanica* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAG43858); *Iris germanica* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAG43858.1); *Cuphea palustris* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAC49179); *Myristica fragrans* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB71729); *Myristica fragrans* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB717291.1); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 U39834); *Umbellularia californica* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 M94159); *Cinnamomum camphora* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 U31813); *Cuphea wrightii* の脂肪族アシル - ACOP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 U56103); 及び *Ricinus communis* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 ABS30422) からなる群から選択されるアシル ACP チオエステラーゼをコードする、項目 8 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 10)

前記油産生微生物細胞が、スクロースインベルターゼをコードする遺伝子を更に含む、項目 2 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 11)

前記油産生微生物細胞が、*Achnanthes orientalis*、*Agmenellum*、*Amphiprora hyaline*、*Amphora coffeiformis*、*Amphora coffeiformis lineae*、*Amphora coffeiformis punctata*、*Amphora coffeiformis taylori*、*Amphora coffeiformis tenuis*、*Amphora delicatissima*、*Amphora delicatissima capitata*、*Amphora sp.*、*Anabaena*、*Ankist*

rodesmus, Ankistrodesmus falcatus, Boekelovia hooglandii, Borodinella sp., Botryococcus braunii, Botryococcus sudeticus, Carteria, Chaetoceros gracilis, Chaetoceros muelleri, Chaetoceros muelleri subsalsum, Chaetoceros sp., Chlorella anitrata, Chlorella Antarctica, Chlorella aureoviridis, Chlorella candida, Chlorella capsulate, Chlorella desiccata, Chlorella ellipsoidea, Chlorella emersonii, Chlorella fusca, Chlorella fusca var. vacuolata, Chlorella glucotrophica, Chlorella infusionum, Chlorella infusionum var. actophila, Chlorella infusionum var. auxenophila, Chlorella kessleri, Chlorella lobophora (strain SAG37.88), Chlorella luteoviridis, Chlorella luteoviridis var. aureoviridis, Chlorella luteoviridis var. lutescens, Chlorella miniata, Chlorella minutissima, Chlorella mutabilis, Chlorella nocturna, Chlorella parva, Chlorella photophila, Chlorella pringsheimii, Chlorella protothecoides (任意のUTEX株1806、411、264、256、255、250、249、31、29、25、並びにCCAP株211/17及び211/8dを含む), Chlorella protothecoides var. acidicola, Chlorella regularis, Chlorella regularis var. minima, Chlorella regularis var. umbricata, Chlorella reisiigii, Chlorella saccharophila, Chlorella saccharophila var. ellipsoidea, Chlorella salina, Chlorella simplex, Chlorella sorokiniana, Chlorella sp., Chlorella sphaerica, Chlorella stigmatophora, Chlorella vanniellii, Chlorella vulgaris, Chlorella vulgaris, Chlorella vulgaris f. tertia, Chlorella vulgaris var. autotrophica, Chlorella vulgaris var. viridis, Chlorella vulgaris var. vulgaris f. tertia, Chlorella vulgaris var. vulgaris f. viridis, Chlorella xanthella, Chlorella zofingiensis, Chlorella trebouxii, Chlorella vulgaris, Chlorococcum infusionum, Chlorococcum sp., Chlorogonium, Chroomonas sp., Chrysosphaera sp., Cricosphaera sp., Cryptomonas sp., Cyclotella cryptica, Cyclotella meneghiniana, Cyclotella sp., Dunaliella sp., Dunaliella bardawil, Dunaliella bioculata, Dunaliella granulate, Dunaliella maritime, Dunaliella minuta, Dunaliella parva, Dunaliella peircei, Dunaliella primolecta, Dunaliella salina, Dunaliella

ielia terricola、Dunaliella tertiolecta、Dunaliella viridis、Dunaliella tertiolecta、Eremosphaera viridis、Eremosphaera sp.、Ellipsoidon sp.、Euglena、Franceia sp.、Fragilaria crotonensis、Fragilaria sp.、Gleocapsa sp.、Gloeothamnion sp.、Hymenomonas sp.、Isochrysis aff. galbana、Isochrysis galbana、Lepocinclis、Micractinium、Micractinium (UTEX LB2614)、Monoraphidium minutum、Monoraphidium sp.、Nannochloris sp.、Nannochloropsis salina、Nannochloropsis sp.、Navicula acceptata、Navicula biskanterae、Navicula pseudotenelloides、Navicula pelliculosa、Navicula saprophila、Navicula sp.、Nephrochloris sp.、Nephroselmis sp.、Nitzschia communis、Nitzschia alexandrina、Nitzschia communis、Nitzschia dissipata、Nitzschia frustulum、Nitzschia hantzschiana、Nitzschia inconspicua、Nitzschia intermedia、Nitzschia microcephala、Nitzschia pusilla、Nitzschia pusilla elliptica、Nitzschia pusilla monoensis、Nitzschia quadrangular、Nitzschia sp.、Ochromonas sp.、Oocystis parva、Oocystis pusilla、Oocystis sp.、Oscillatoria limnetica、Oscillatoria sp.、Oscillatoria subbrevis、Pascheria acidophila、Pavlova sp.、Phagus、Phormidium、Platymonas sp.、Pleurochrysis carterae、Pleurochrysis dentate、Pleurochrysis sp.、Prototheca wickerhamii、Prototheca stagnora、Prototheca portoricensis、Prototheca moriformis、Prototheca zopfii、Pyramimonas sp.、Pyrobotrys、Sarcinoid chrysophyte、Scenedesmus armatus、Spirogyra、Spirulina platensis、Stichococcus sp.、Synechococcus sp.、Tetraedron、Tetraselmis sp.、Tetraselmis suecica、Thalassiosira weissflogii、及びViridielia friderici anaから選択される微細藻類遺伝子又は種の細胞である、項目2に記載の油産生微生物細胞。

(項目12)

前記油産生微生物細胞が、Prototheca属の種の細胞である、項目11に記載の油産生微生物細胞。

(項目13)

前記油産生微生物細胞が、Prototheca moriformis属の細胞である、項目12に記載の油産生微生物細胞。

(項目14)

前記油産生微生物細胞が、油産生酵母細胞である、項目2に記載の油産生微生物細胞。

(項目15)

前記油産生微生物細胞が、油産生細菌細胞である、項目2に記載の油産生微生物細胞。

(項目16)

前記天然に存在する油が、カカオバターであり、前記外来遺伝子が、*Carthamus tinctorius* チオエステラーゼ遺伝子を含む、項目 4 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 17)

前記の天然に存在する油が、ココナツ油である、項目 4 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 18)

前記の天然に存在する油が、パーム油であり、前記外来遺伝子が、*Elaeis guineensis* のチオエステラーゼ遺伝子、*Cuphea hookeriana* のチオエステラーゼ遺伝子、*Cuphea hookeriana* の KAS IV 遺伝子と *Cuphea wrightii* の FATB2 遺伝子との組み合わせ、又は内在性 KAS II 遺伝子を破壊するように設計された構築物を含む、項目 4 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 19)

前記天然に存在する油が、パーム核油であり、前記外来遺伝子が、*Cuphea wrightii* の FATB2 遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせを含む、項目 4 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 20)

前記天然に存在する油が、シアバターである、項目 4 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 21)

前記天然に存在する油が、牛脂である、項目 4 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 22)

前記天然に存在する油がラードであり、前記外来遺伝子が、*U. californica* のチオエステラーゼ遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するよう設計された構築物との組み合わせ、*Garcinia mangostana* のチオエステラーゼ遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせ、*Brassica napus* のチオエステラーゼ遺伝子、又は *Cuphea hookeriana* のチオエステラーゼ遺伝子を含む、項目 4 に記載の油産生微生物細胞。

(項目 23)

トリグリセリド油の脂肪酸プロファイルが、少なくとも約 1 % の C8 : 0、少なくとも約 1 % の C10 : 0、少なくとも約 1 % の C12 : 0、少なくとも約 2 % の C14 : 0、少なくとも約 30 % の C16 : 0、少なくとも約 5 % の C18 : 0、少なくとも約 60 % の C18 : 1、約 7 % 未満の C18 : 2 及び少なくとも約 35 % の飽和脂肪酸からなる群から選択される、油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 24)

培養培地中の組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生し、前記油産生微生物細胞が外来遺伝子を含み、任意に、前記油産生微生物細胞の内在性デサチュラーゼが、不活性化もしくはより低い酵素活性を有するよう変異した、項目 23 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 25)

前記トリグリセリド油の前記脂肪酸プロファイルが、天然に存在する油のトリグリセリド油プロファイルに類似する、項目 24 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 26)

前記の天然に存在する油が、カカオバター、ココナツ油、パーム油、パーム核油、シアバター牛脂及びラードからなる群から選択される、項目 25 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 27)

前記トリグリセリド油の脂肪酸プロファイルが、C10 : 0 と C12 : 0 と C14 : 0 の総合計量が少なくとも約 50 % であり、C16 : 0 と C18 : 0 と C18 : 1 の総合計量が少なくとも約 60 % であり、C18 : 0、C18 : 1 及び C18 : 2 の総合計量が約 60 % であり、C14 : 0 と C16 : 0 と C18 : 0 と C18 : 1 の総合計量が少なくと

も約60%であり、及びC8:0とC10:0の総合計量が約50%未満であるプロフィールを含む、項目24に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目28)

前記トリグリセリド油の脂肪酸プロフィールが、C8:0とC10:0の比は少なくとも約5:1、C10:0とC12:0の比は少なくとも約6:1、C12:0とC14:0の比は少なくとも約5:1、C14:0とC12:0の比は少なくとも約7:1、C14:0とC16:0の比は少なくとも約1:2からなる群から選択される脂肪酸比を含む、項目24に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目29)

培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、前記内在性デサチュラーゼが、ステアロイルACPデサチュラーゼおよびデルタ12脂肪酸デサチュラーゼからなる群から選択される、項目24に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目30)

培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、前記油産生微生物細胞が、アシルACPチオエステラーゼをコードする外来遺伝子を含む、項目29に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目31)

培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、前記油産生微生物細胞が、*Umbellularia californica* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAC49001); *Cinnamomum camphora* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号Q39473); *Umbellularia californica* の脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号Q41635); *Myristica fragrans* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAB71729); *Myristica fragrans* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAB71730); *Elaeis guineensis* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号ABD83939); *Elaeis guineensis* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAD42220); *Populus tomentosa* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号ABC47311); *Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号NP_172327); *Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号CAA85387); *Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号CAA85388); *Gossypium hirsutum* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号Q9SQI3); *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号CAA54060); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAC72882); *Cuphea calophylla* subsp. *mesostemon* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号ABB71581); *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号CAC19933); *Elaeis guineensis* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAL15645); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号Q39513); *Gossypium hirsutum* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAD01982); *Vitis vinifera* 脂肪アシル-ACPチオエス

テラーゼ (GenBank 寄託番号CAN81819); *Garcinia mangostana* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAB51525); *Brassica juncea* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号ABI18986); *Madhuca longifolia* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AX51637); *Brassica napus* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号ABH11710); *Oryza sativa* (インディカ品種群) 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号EAY86877); *Oryza sativa* (ジャポニカ品種群) 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号NP_001068400); *Oryza sativa* (インディカ品種群) 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号EAY99617); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAC49269); *Ulmus Americana* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAB71731); *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号CAB60830); *Cuphea palustris* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAC49180); *Iris germanica* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAG43858); *Iris germanica* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAG43858.1); *Cuphea palustris* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAC49179); *Myristica fragrans* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAB71729); *Myristica fragrans* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号AAB717291.1); *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号U39834); *Umbellularia californica* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号M94159); *Cinnamomum camphora* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号U31813); *Cuphea wrightii* の脂肪族アシル-ACOP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号U56103); 及び *Ricinus communis* 脂肪アシル-ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号ABS30422) からなる群から選択されるアシル-ACP チオエステラーゼをコードする外来遺伝子を含む、項目30に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目32)

培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、前記油産生微生物細胞が、スクロースインベルターゼをコードする遺伝子を更に含む、項目31に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目33)

培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、前記油産生微生物細胞が、*Achnanthes orientalis*、*Agmenellum*、*Amphiprora hyaline*、*Amphora coffeiformis*、*Amphora coffeiformis lineae*、*Amphora coffeiformis punctata*、*Amphora coffeiformis taylori*、*Amphora coffeiformis tenuis*、*Amphora delicatissima*、*Amphora delicatissima capitata*、*Amphora sp.*、*Anabaena*、*Ankistrodesmus*、*Ankistrodesmus falcatus*、*Boekelovia hooglandii*、*Borodinella sp.*、*Botryococcus braunii*、*Botryococcus sudeticus*、*Carteria*、

Chaetoceros gracilis, Chaetoceros muelleri, Chaetoceros muelleri subsalsum, Chaetoceros sp., Chlorella anitrata, Chlorella Antarctica, Chlorella aureoviridis, Chlorella candida, Chlorella capsulate, Chlorella desiccata, Chlorella ellipsoidea, Chlorella emersonii, Chlorella fusca, Chlorella fusca var. vacuolata, Chlorella glucotrophica, Chlorella infusionum, Chlorella infusionum var. actophila, Chlorella infusionum var. auxenophila, Chlorella kessleri, Chlorella lobophora (SAG株37.88), Chlorella luteoviridis, Chlorella luteoviridis var. aureoviridis, Chlorella luteoviridis var. lutescens, Chlorella miniata, Chlorella minutissima, Chlorella mutabilis, Chlorella nocturna, Chlorella parva, Chlorella photophila, Chlorella pringsheimii, Chlorella protothecoides (任意のUTEX株1806、411、264、256、255、250、249、31、29、25、並びにCCAP株211/17及び211/8dを含む), Chlorella protothecoides var. acidicola, Chlorella regularis, Chlorella regularis var. minima, Chlorella regularis var. umbricata, Chlorella reisiigii, Chlorella saccharophila, Chlorella saccharophila var. ellipsoidea, Chlorella salina, Chlorella simplex, Chlorella sorokiniana, Chlorella sp., Chlorella sphaerica, Chlorella stigmatophora, Chlorella vanniellii, Chlorella vulgaris, Chlorella vulgaris, Chlorella vulgaris f. tertia, Chlorella vulgaris var. autotrophica, Chlorella vulgaris var. viridis, Chlorella vulgaris var. vulgaris, Chlorella vulgaris var. vulgaris f. tertia, Chlorella vulgaris var. vulgaris f. viridis, Chlorella xanthella, Chlorella zofingiensis, Chlorella trebouxioides, Chlorella vulgaris, Chlorococcum infusionum, Chlorococcum sp., Chlorogonium, Chroomonas sp., Chrysosphaera sp., Cricosphaera sp., Cryptomonas sp., Cyclotella cryptica, Cyclotella meneghiniana, Cyclotella sp., Dunaliella sp., Dunaliella bardawil, Dunaliella bioculata, Dunaliella granulate, Dunaliella maritima, Dunaliella minuta, Dunaliella parva, Dunaliella peircei, Dunaliella primolecta, Dunaliella salina, Dunaliella terricola, Dunaliella tertiolecta, Dunaliella viridis, Dunaliella tertiolecta, Eremosphaera viridis, Eremosphaera sp., Ellipsoidon

sp.、*Euglena*、*Franceia sp.*、*Fragilaria crotonensis*、*Fragilaria sp.*、*Gleocapsa sp.*、*Gleothamnion sp.*、*Hymenomonas sp.*、*Isochrysis aff. galbana*、*Isochrysis galbana*、*Lepocinclis*、*Micractinium*、*Micractinium (UTEX LB 2614)*、*Monoraphidium minutum*、*Monoraphidium sp.*、*Nannochloris sp.*、*Nannochloropsis salina*、*Nannochloropsis sp.*、*Navicula accepatata*、*Navicula biskanterae*、*Navicula pseudotenelloides*、*Navicula pelliculosa*、*Navicula saprophila*、*Navicula sp.*、*Nephrochloris sp.*、*Nephroselmis sp.*、*Nitzschia communis*、*Nitzschia alexandrina*、*Nitzschia communis*、*Nitzschia dissipata*、*Nitzschia frustulum*、*Nitzschia hantzschiana*、*Nitzschia inconspicua*、*Nitzschia intermedia*、*Nitzschia microcephala*、*Nitzschia pusilla*、*Nitzschia pusilla elliptica*、*Nitzschia pusilla monensis*、*Nitzschia quadrangular*、*Nitzschia sp.*、*Ochromonas sp.*、*Oocystis parva*、*Oocystis pusilla*、*Oocystis sp.*、*Oscillatoria limnetica*、*Oscillatoria sp.*、*Oscillatoria subbrevis*、*Pascheria acidophila*、*Pavlova sp.*、*Phagus*、*Phormidium*、*Platymonas sp.*、*Pleurochrysis carterae*、*Pleurochrysis dentate*、*Pleurochrysis sp.*、*Prototheca wickerhamii*、*Prototheca stagnora*、*Prototheca portoricensis*、*Prototheca moriformis*、*Prototheca zopfii*、*Pyramimonas sp.*、*Pyrobotrys*、*Sarcinoid chrysophyte*、*Scenedesmus armatus*、*Spirogyra*、*Spirulina platensis*、*Stichococcus sp.*、*Synechococcus sp.*、*Tetraedron*、*Tetraselmis sp.*、*Tetraselmis suecica*、*Thalassiosira weissflogii*、及び *Viridiella fridericiiana* から選択される微細藻類遺伝子又は種の細胞である、項目 32 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 34)

培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、前記油産生微生物細胞が *Prototheca* 属の細胞である、項目 24 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 35)

培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養することにより産生され、前記油産生微生物細胞が *Prototheca moriformis* 属の細胞である、項目 34 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 36)

前記油産生微生物細胞が油産生酵母細胞である、項目 24 に記載の油産生微生物トリグリセリド油。

(項目 37)

前記油産生微生物細胞が産生細菌細胞である、項目 24 に記載の油産生微生物トリグリセリド油。

(項目 38)

前記天然に存在する油がココナツ油である、項目 26 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 39)

前記天然に存在する油がパーム油であり、前記外来遺伝子が、前記外来遺伝子が、*Elaeis guiniensis* のチオエステラーゼ遺伝子、*Cuphea hookeriana* のチオエステラーゼ遺伝子、*Cuphea hookeriana* の KAS IV 遺伝子と *Cuphea wrightii* の FATB2 遺伝子との組み合わせ、又は内在性 KAS II 遺伝子を破壊するように設計された構築物を含む、項目 26 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 40)

前記の天然に存在する油がパーム核油であり、前記外来遺伝子が、*Cuphea wrightii* の FATB2 遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせを含む、項目 26 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 41)

前記の天然に存在する油がシアバターである、項目 26 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 42)

前記の天然に存在する油が牛脂である、項目 26 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 43)

前記の天然に存在する油がラードであり、前記外来遺伝子が、*U. californica* のチオエステラーゼ遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するよう設計された構築物との組み合わせ、*Garcinia mangostana* のチオエステラーゼ遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせ、*Brassica napus* のチオエステラーゼ遺伝子、又は *Cuphea hookeriana* のチオエステラーゼ遺伝子を含む、項目 26 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 44)

トリグリセリド油組成物が、

i . 0 . 3 m c g / g 未満の総カロテノイド ;

ii . 0 . 0 0 5 m c g / g 未満のリコピン ;

iii . 0 . 0 0 5 m c g / g 未満の - カロテン ;

iv . 0 . 3 m c g / g 未満のクロロフィル A ;

v . 1 7 5 m c g / g 未満の トコフェロール ;

vi . 0 . 2 5 % 未満のブラシカステロール、カンペステロール、スチグナステロール、または - シトステロール ;

vii . 3 5 0 m c g / g 未満の総トコトリエノール ;

viii . 0 . 0 5 m c g / g 未満のルテイン ; 又は ix . 2 7 5 m c g / g 未満の トコフェロール ;

からなる群から選択される性質を更に含む、項目 23 に記載の油産生微生物トリグリセリド油組成物。

(項目 45)

油産生微生物トリグリセリド油組成物の製造法であって、前記トリグリセリド油組成物が、少なくとも約 1 % の C8 : 0、少なくとも約 1 % の C10 : 0、少なくとも約 1 % の C12 : 0、少なくとも約 2 % の C14 : 0、少なくとも約 30 % の C16 : 0、少なくとも約 5 % の C18 : 0、少なくとも約 60 % の C18 : 1、約 7 % 未満の C18 : 2 及び少なくとも約 35 % の飽和脂肪酸からなる群から選択される脂肪酸プロフィールを有し、本方法が、

a. 乾燥細胞重量で前記油産生微生物細胞の少なくとも10%がトリグリセリド油となるまで培養培地で組み換え油産生微生物細胞の個体群を培養し；及び

b. 前記トリグリセリド油組成物を前記油産生微生物細胞から分離する工程を含む製造法。

(項目46)

前記油産生微生物細胞が外来遺伝子を含み、任意に、前記油産生微生物細胞の内在性デサチュラーゼが不活性化又はより低い酵素活性に変異した、項目45に記載の方法。

(項目47)

前記トリグリセリド油の脂肪酸プロファイルが、天然に存在する油のトリグリセリド油プロファイルに類似している、項目46に記載の方法。

(項目48)

前記の天然に存在する油が、カカオバター、ココナツ油、パーム油、パーム核油、シアバター、牛脂及びラードからなる群から選択される、項目47に記載の方法。

(項目49)

前記トリグリセリド油の前記脂肪酸プロファイルが、プロファイルを含み、C10:0とC12:0とC14:0の総合計量が少なくとも約50%であり、C16:0とC18:0とC18:1の総合計量が少なくとも約60%であり、C18:0とC18:1及びC18:2の総合計量が少なくとも約60%であり、C14:0とC16:0とC18:0及びC18:1の総合計量が少なくとも約60%であり、C8:0とC10:0の総合計量が約50%未満である、項目46に記載の方法。

(項目50)

前記トリグリセリド油の前記脂肪酸プロファイルが、C8:0とC10:0の比は少なくとも約5:1、C10:0とC12:0の比は少なくとも約6:1、C12:0とC14:0の比は少なくとも約5:1、C14:0とC12:0の比は少なくとも約7:1、C14:0とC16:0の比は少なくとも約1:2からなる群から選択される脂肪酸比を含む、項目45に記載の方法。

(項目51)

前記内在性デサチュラーゼが、ステアロイルACPデサチュラーゼ及びデルタ12脂肪酸デサチュラーゼからなる群から選択される、項目46に記載の方法。

(項目52)

前記外来遺伝子は、アシル-ACPチオエステラーゼをコードする遺伝子からなる群から選択される、項目46に記載の方法。

(項目53)

前記外来遺伝子が、*Umbellularia californica* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAC49001)；*Cinnamomum camphora* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号Q39473)；*Umbellularia californica* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号Q41635)；*Myristica fragrans* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAB71729)；*Myristica fragrans* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAB71730)；*Elaeis guineensis* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号ABD83939)；*Elaeis guineensis* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号AAD42220)；*Populus tomentosa* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号ABC47311)；*Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号NP_172327)；*Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号CAA85387)；*Arabidopsis thaliana* 脂肪アシル-ACPチオエステラーゼ (GenBank寄託番号CAA8538

8) ; *Gossypium hirsutum* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 Q9SQI3) ; *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 CAA54060) ; *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAC72882) ; *Cuphea calophylla* subsp. *mesostemon* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 ABB71581) ; *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 CAC19933) ; *Elaeis guineensis* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAL15645) ; *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 Q39513) ; *Gossypium hirsutum* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAD01982) ; *Vitis vinifera* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 CAN81819) ; *Garcinia mangostana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB51525) ; *Brassica juncea* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 ABI18986) ; *Madhuca longifolia* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAX51637) ; *Brassica napus* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 ABH11710) ; *Oryza sativa* (インディカ品種群) 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 EAY86877) ; *Oryza sativa* (ジャポニカ品種群) 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 NP_001068400) ; *Oryza sativa* (インディカ品種群) 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 EAY99617) ; *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAC49269) ; *Ulmus americana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB71731) ; *Cuphea lanceolata* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 CAB60830) ; *Cuphea palustris* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAC49180) ; *Iris germanica* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAG43858) ; *Iris germanica* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAG43858.1) ; *Cuphea palustris* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAC49179) ; *Myristica fragrans* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB71729) ; *Myristica fragrans* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 AAB71729.1) ; *Cuphea hookeriana* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 U39834) ; *Umbellularia californica* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 M94159) ; *Cinnamomum camphora* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 U31813) ; *Cuphea wrightii* の脂肪族アシル - ACOP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 U56103) ; 及び *Ricinus communis* 脂肪アシル - ACP チオエステラーゼ (GenBank 寄託番号 ABS30422) からなる群から選択されるアシル ACP チオエステラーゼをコードする、項目 52 に記載の方法。

(項目 54)

前記油産生微生物細胞が、スクロースインベルターゼをコードする遺伝子を更に含む、項目 46 に記載の方法。

(項目55)

前記油産生微生物細胞が、*Achnanthes orientalis*、*Agmenellum*、*Amphiprora hyaline*、*Amphora coffeiformis*、*Amphora coffeiformis lineata*、*Amphora coffeiformis punctata*、*Amphora coffeiformis taylori*、*Amphora coffeiformis tenuis*、*Amphora delicatissima*、*Amphora delicatissima capitata*、*Amphora sp.*、*Anabaena*、*Ankistrodesmus*、*Ankistrodesmus falcatus*、*Boekelovia hooglandii*、*Borodinella sp.*、*Botryococcus braunii*、*Botryococcus sudeticus*、*Carteria*、*Chaetoceros gracilis*、*Chaetoceros muelleri*、*Chaetoceros muelleri subsalsum*、*Chaetoceros sp.*、*Chlorella anitrata*、*Chlorella Antarctica*、*Chlorella aureoviridis*、*Chlorella candida*、*Chlorella capsulate*、*Chlorella desiccata*、*Chlorella ellipsoidea*、*Chlorella emersonii*、*Chlorella fusca*、*Chlorella fusca var. vacuolata*、*Chlorella glucotrophica*、*Chlorella infusionum*、*Chlorella infusionum var. actophila*、*Chlorella infusionum var. auxenophila*、*Chlorella kessleri*、*Chlorella lobophora* (SAG株37.88)、*Chlorella luteoviridis*、*Chlorella luteoviridis var. aureoviridis*、*Chlorella luteoviridis var. lutescens*、*Chlorella miniata*、*Chlorella minutissima*、*Chlorella mutabilis*、*Chlorella nocturna*、*Chlorella parva*、*Chlorella photophila*、*Chlorella pringsheimii*、*Chlorella protothecoides* (任意のUTEX株1806、411、264、256、255、250、249、31、29、25、並びにCCAP株211/17及び211/8dを含む)、*Chlorella protothecoides and var. acidicola*、*Chlorella regularis*、*Chlorella regularis var. minima*、*Chlorella regularis var. umbricata*、*Chlorella reisiiglii*、*Chlorella saccharophila*、*Chlorella saccharophila var. ellipsoidea*、*Chlorella salina*、*Chlorella simplex*、*Chlorella sorokiniana*、*Chlorella sp.*、*Chlorella sphaerica*、*Chlorella stigmatophora*、*Chlorella vanniellii*、*Chlorella vulgaris*、*Chlorella vulgaris*、*Chlorella vulgaris f. tertia*、*Chlorella vulgaris var. autotrophica*、*Chlorella vulgaris var. viridis*、*Chlorella vulgaris var. vulgaris*、*Chlorella vulgaris var. vulgaris f. tertia*、*Chlorella vulgaris var. vulgaris f. viridis*、*Chlorella xanthella*、*Chlorella zofingiensis*、*Chlorella trebouxioides*、*Chlorella vulgaris*、*Chlorococcum infusionum*、*Chlorococcum sp.*、*Chlorogonium*、*Chr*

oomonas sp., Chrysosphaera sp., Cricosphaera sp., Cryptomonas sp., Cyclotella cryptica, Cyclotella meneghiniana, Cyclotella sp., Dunaliella sp., Dunaliella bardawil, Dunaliella bioculata, Dunaliella granulate, Dunaliella maritime, Dunaliella minuta, Dunaliella parva, Dunaliella peircei, Dunaliella primolecta, Dunaliella salina, Dunaliella terricola, Dunaliella tertiolecta, Dunaliella viridis, Dunaliella tertiolecta, Eremosphaera viridis, Eremosphaera sp., Ellipsoidon sp., Euglena, Franceia sp., Fragilaria crotonensis, Fragilaria sp., Gleocapsa sp., Gloeothamnion sp., Hymenomonas sp., Isochrysis aff. galbana, Isochrysis galbana, Lepocinclis, Micractinium, Micractinium (UTEX LB2614), Monoraphidium minutum, Monoraphidium sp., Nannochloris sp., Nannochloropsis salina, Nannochloropsis sp., Navicula acceptata, Navicula biskanterae, Navicula pseudotenelloides, Navicula pelliculosa, Navicula saprophila, Navicula sp., Nephrochloris sp., Nephroselmis sp., Nitzschia communis, Nitzschia alexandrina, Nitzschia communis, Nitzschia dissipata, Nitzschia frustulum, Nitzschia hantzschiana, Nitzschia inconspicua, Nitzschia intermedia, Nitzschia microcephala, Nitzschia pusilla, Nitzschia pusilla elliptica, Nitzschia pusilla monoensis, Nitzschia quadrangular, Nitzschia sp., Ochromonas sp., Oocystis parva, Oocystis pusilla, Oocystis sp., Oscillatoria limnetica, Oscillatoria sp., Oscillatoria subbrevis, Pascheria acidophila, Pavlova sp., Phagus, Phormidium, Platymonas sp., Pleurochrysis carterae, Pleurochrysis dentate, Pleurochrysis sp., Prototheca wickerhamii, Prototheca stagnora, Prototheca portoricensis, Prototheca moriformis, Prototheca zopfii, Pyramimonas sp., Pyrobotrys, Sarcinoid chrysophyte, Scenedesmus armatus, Spirogyra, Spirulina platensis, Stichococcus sp., Synechococcus sp., Tetraedron, Tetraselmis sp., Tetraselmis suecica, Thalassiosira weissflogii、及びViridiella fridericiannaから選択される微細藻類の遺伝子もしくは種の細胞である、項目46に記載の方法。

(項目56)

前記油産生微生物細胞がPrototheca属の細胞である、項目55に記載の方法。

(項目57)

前記油産生微生物細胞が、*Prototheca moriformis* 属の細胞である、項目 56 に記載の方法。

(項目 58)

前記天然に存在する油が、ココナツ油である、項目 48 に記載の方法。

(項目 59)

前記の天然に存在する油がパーム油であり、前記外来遺伝子が、前記外来遺伝子が、*Elaeis guiniensis* のチオエステラーゼ遺伝子、*Cuphea hookeriana* のチオエステラーゼ遺伝子、*Cuphea hookeriana* の KAS IV 遺伝子と *Cuphea wrightii* の FATB2 遺伝子との組み合わせ、又は内在性 KAS II 遺伝子を破壊するように設計された構築物を含む、項目 48 に記載の方法。

(項目 60)

前記の天然に存在する油がパーム核油であり、前記外来遺伝子が、*Cuphea wrightii* の FATB2 遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせを含む、項目 48 に記載の方法。

(項目 61)

前記の天然に存在する油がシアバターである、項目 48 に記載の方法。

(項目 62)

前記の天然に存在する油が牛脂である、項目 48 に記載の方法。

(項目 63)

前記の天然に存在する油がラードであり、前記外来遺伝子が、*U. californica* のチオエステラーゼ遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するよう設計された構築物との組み合わせ、*Garcinia mangostana* のチオエステラーゼ遺伝子と、内在する SAD2B 遺伝子を破壊するように設計された構築物との組み合わせ、*Brassica napus* のチオエステラーゼ遺伝子、又は *Cuphea hookeriana* のチオエステラーゼ遺伝子を含む、項目 48 に記載の方法。

(項目 64)

油を基本とする産物を作成する方法であって、本方法には

a. 項目 21 に記載の前記油産生微生物トリグリセリド油組成物に対し、鹼化；メタセシス；酸加水分解；アルカリ加水分解；酵素加水分解；触媒的加水分解；加圧熱水による加水分解；脂質がグリセロールと脂肪酸に分解される触媒的加水分解反応；脂肪族窒素化合物が生成されるアミノ化反応；一塩基性及び二塩基性酸が生成されるオゾン分解反応；酵素分解及び加圧分解からなる群から選択されるトリグリセリド分解反応；加水分解反応の後の縮合反応；水素化処理反応；水素化処理反応と脱酸素反応、又は水素化処理反応の前若しくは水素化処理反応と同時の縮合反応；ガス除去反応；水素化分解反応、水素化、水素化 - 水素化分解の連続反応、水素化分解 - 水素化の連続反応及び水素化 - 水素化分解反応の組み合わせからなる群から選択される脱酸素反応；脱酸素反応の後の縮合反応；エステル化反応；インターエステル化反応；トランスエステル化反応；ヒドロキシル化反応；及びヒドロキシル化反応の後の縮合反応；

からなる群から選択される少なくとも 1 つの化学反応を施すこと；及び

b. 他の組成物から前記反応物を分離すること

が工程として含まれる、製造方法。

(項目 65)

前記の油を基本とする産物が、石鹼、燃料、電解液、作動油、可塑剤、潤滑剤、伝熱流体、及び金属作動流体からなる群から選択される、項目 64 に記載の方法。

(項目 66)

前記の油を基本とする産物が、

a. バイオディーゼル

b. 再生可能ディーゼル、及び

c. ジェット燃料

からなる群から選択される燃料製品である、項目 6 5 に記載の方法。

(項目 6 7)

前記の燃料製品が、

以下の 1 つ又はそれ以上の性質、すなわち、

i . 総カロテノイドが、0 . 3 m c g / g 未満；

i i . リコピンが 0 . 0 0 5 m c g / g 未満；

i i i . β -カロテンが、0 . 0 0 5 m c g / g 未満；

i v . クロロフィル A が、0 . 3 m c g / g 未満；

v . トコフェロールが、1 7 5 m c g / g 未満；

v i . ブラシカステロール、カンペステロール、スチグマステロール、または γ -シトステロールが、0 . 2 5 % 未満；

v i i . トコトリエノールが、3 5 0 m c g / g 未満；

v i i i . ルテインが、0 . 0 5 m c g / g 未満；若しくは

i x . トコフェロールが、2 7 5 m c g / g 未満；

のうち 1 つ又はそれ以上の性質を有するバイオディーゼルである、項目 6 6 に記載の方法。

(項目 6 8)

前記燃料製品が、少なくとも、2 0 、4 0 、又は 6 0 の T 1 0 から T 9 0 を有する再生可能ディーゼルである、項目 6 6 に記載の方法。

(項目 6 9)

前記燃料製品が、H R J - 5 及び / 又は A S T M 規格 D 1 6 5 5 を満たすジェット燃料である、項目 6 6 に記載の方法。

本発明は、異なる脂質プロフィールを有する油産生微生物細胞、好ましくは微細藻類細胞を提供し、脂肪族アシル - A C P チオエステラーゼのようなタンパク質をコードする外来遺伝子を発現する組み換え細胞を含む。また本発明は、このような細胞からバイオディーゼル、再生可能なディーゼル及びジェット燃料のような燃料を含めた脂質及び油脂系製品を製造する方法も提供する。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 4 3 3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 4 3 3】

本発明について上に詳細に説明し、以下の実施例で例示するが、これらは説明のために与えられたものであり、特許請求の範囲に書かれた発明を限定するために与えられているのではない。