【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30年7月5日(2018.7.5)

【公表番号】特表2017-518747(P2017-518747A)
【公表日】平成29年7月13日(2017.7.13)
【年通号数】公開・登録公報2017-026
【出願番号】特願2016-568903(P2016-568903)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｐ　7/64　(2006.01)
Ａ２３Ｌ　33/12　(2016.01)
Ｃ１２Ｎ　1/14　(2006.01)
Ａ２３Ｋ　20/158　(2016.01)
Ａ２３Ｋ　10/10　(2016.01)
Ａ６１Ｋ　31/202　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/20　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　3/02　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｐ　7/64
Ａ２３Ｌ　33/12
Ｃ１２Ｎ　1/14　Ａ
Ａ２３Ｋ　20/158
Ａ２３Ｋ　10/10
Ａ６１Ｋ　31/202
Ａ６１Ｋ　31/20
Ａ６１Ｐ　3/02
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ

【手続補正書】
【提出日】平成30年5月25日(2018.5.25)
【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】
総脂肪酸の少なくとも３５％をドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）として、及び総脂肪酸の少なくとも２５％をミリスチン酸として含む、変異ラビリンチュラ綱（ｌａｂｙｒｉｎｔｈｕｌｏｍｙｃｅｔｅ）微生物により生産される微生物油。
【請求項２】
ＤＨＡ対ＤＰＡの比が少なくとも３．５：１である、請求項１に記載の微生物油。
【請求項３】
総脂肪酸に１０％以下のドコサペンタエン酸（ＤＰＡ）が含まれ；
総脂肪酸に２％未満のアラキドン酸（ＡＲＡ）が含まれ；および／または
総脂肪酸に１％未満のエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）が含まれる、
請求項１に記載の微生物油。
【請求項４】
前記微生物油の脂肪酸の少なくとも３０％がミリスチン酸である、請求項１に記載の微

生物油。
【請求項５】
請求項１に記載の微生物油が含まれる製品であって、随意で食品、動物飼料、化粧品、または医薬品である、製品。
【請求項６】
請求項１に記載の微生物油を生産する、変異ラビリンチュラ綱（ｌａｂｙｒｉｎｔｈｕｌｏｍｙｃｅｔｅ）微生物。
【請求項７】
請求項４に記載の微生物油を生産する、変異ラビリンチュラ綱微生物。
【請求項８】
小規模培養で少なくとも１５０ｍｇ／Ｌ／ｈのペースでＤＨＡを生産する、請求項６または７に記載の変異ラビリンチュラ綱微生物。
【請求項９】
由来元である野生株よりも、総脂肪酸のパーセントとして少なくとも２０％多くのドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）、および少なくとも１００％多くのミリスチン酸を生産する、請求項８に記載の変異ラビリンチュラ綱微生物。
【請求項１０】
配列番号１、配列番号２、配列番号３及び配列番号４、配列番号５、配列番号６、配列番号７、配列番号８、配列番号９、配列番号１０、配列番号１１及び配列番号１２からなる群より選択される配列と少なくとも９８％の同一性を有する１８Ｓ　ｒＤＮＡ配列を含む、請求項６～９のいずれか一項に記載の変異ラビリンチュラ綱微生物。
【請求項１１】
配列番号５及び配列番号９から選択される配列、
配列番号６及び配列番号１０から選択される配列、
配列番号７及び配列番号１１から選択される配列、ならびに
配列番号８及び配列番号１２から選択される配列
と少なくとも９８％の同一性を有する１８Ｓ　ｒＤＮＡ配列を含む、請求項１０に記載の変異ラビリンチュラ綱微生物。
【請求項１２】
配列番号５及び配列番号９から選択される配列、
配列番号６及び配列番号１０から選択される配列、
配列番号７及び配列番号１１から選択される配列、ならびに
配列番号８及び配列番号１２から選択される配列
と少なくとも９８．５％の同一性を有する１８Ｓ　ｒＤＮＡ配列を含む、請求項１１に記載の変異ラビリンチュラ綱微生物。
【請求項１３】
トラストキトリウム（Ｔｈｒａｕｓｔｏｃｈｙｔｒｉｕｍ）属、シゾキトリウム（Ｓｃｈｉｚｏｃｈｙｔｒｉｕｍ）属またはオーランチオキトリウム（Ａｕｒａｎｔｉｏｃｈｙｔｒｉｕｍ）属の種である、請求項１０～１２のいずれか一項に記載の変異ラビリンチュラ綱微生物。
【請求項１４】
請求項６に記載の前記変異微生物が含まれる、微生物バイオマス。
【請求項１５】
請求項１４に記載の微生物バイオマスが含まれる、製品。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２３】

本発明はまた、本発明のラビリンチュラ綱微生物もしくはバイオマスのいずれか１種類またはそれらの混合物が含まれる食品、動物飼料、化粧品、栄養製品、治療製品、または医薬品にも関する。本発明はまた、本発明の各種微生物油のいずれかが含まれる人や動物用の食品、化粧品または医薬組成物にも関する。いくつかの実施形態では、食品は乳児用調合乳である。いくつかの実施形態では、食品は、ミルク、飲料、治療飲料、栄養飲料またはそれらの組合せである。いくつかの実施形態では、食品は、動物や人の食品の添加剤である。いくつかの実施形態では、食品は栄養サプリメントである。いくつかの実施形態では、食品は、動物飼料である。いくつかの実施形態では、動物飼料は養殖飼料である。いくつかの実施形態では、動物飼料は、ペットの餌、動物園の動物の餌、使役動物の餌、家畜の餌、またはそれらの組合せである。

[本発明1001]
総脂肪酸の少なくとも25％をＤＨＡとして、及び総脂肪酸の少なくとも6％をミリスチン酸として含む、微生物油。

[本発明1002]
ＤＨＡ対ＤＰＡの比が少なくとも3．5：1である、本発明1001の微生物油。

[本発明1003]
ＤＨＡ対ＤＰＡの比が少なくとも4：1である、本発明1001の微生物油。

[本発明1004]
前記微生物油の総脂肪酸の少なくとも30％がＤＨＡである、本発明1003の微生物油。

[本発明1005]
前記微生物油の総脂肪酸の少なくとも35％がＤＨＡである、本発明1004の微生物油。

[本発明1006]
総脂肪酸に10％以下のＤＰＡが含まれる、本発明1001の微生物油。

[本発明1007]
総脂肪酸に2％未満のＡＲＡが含まれる、本発明1001の微生物油。

[本発明1008]
総脂肪酸に1％未満のＥＰＡが含まれる、本発明1001の微生物油。

[本発明1009]
前記微生物油の脂肪酸の少なくとも10％がミリスチン酸である、本発明1001の微生物油。

[本発明1010]
前記微生物油の脂肪酸の少なくとも12％がミリスチン酸である、本発明1009の微生物油。

[本発明1011]
前記微生物油の脂肪酸の少なくとも15％がミリスチン酸である、本発明1010の微生物油。

[本発明1012]
本発明1001の微生物油が含まれる、製品。

[本発明1013]
食品、動物飼料、化粧品、または医薬品である、本発明1012の製品。

[本発明1014]
変異微生物から分離される、本発明1001の微生物油。

[本発明1015]
本発明1001の微生物油を生産する、変異ラビリンチュラ綱（ｌａｂｙｒｉｎｔｈｕｌｏｍｙｃｅｔｅ）微生物。

[本発明1016]
その脂肪酸の少なくとも25％をＤＨＡとして、及びその脂肪酸の少なくとも6％をミリスチン酸として生産する、変異ラビリンチュラ綱微生物。

[本発明1017]
その脂肪酸の少なくとも30％をＤＨＡとして、及びその脂肪酸の少なくとも10％をミリ

スチン酸として生産する、本発明1016の変異ラビリンチュラ綱微生物。
[本発明1018]
小規模培養で少なくとも100ｍｇ／Ｌ／ｈのペースでＤＨＡを生産し、さらに、由来元である野生株よりも、総脂肪酸のパーセントとして少なくとも20％多くのドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及び少なくとも100％多くのミリスチン酸を生産する、本発明1016の変異ラビリンチュラ綱微生物。
[本発明1019]
前記微生物により生産される総脂肪酸には、少なくとも30％のＤＨＡ及び少なくとも10％のミリスチン酸が含まれる、本発明1016の変異ラビリンチュラ綱微生物。
[本発明1020]
配列番号1、配列番号2、配列番号3及び配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11及び配列番号12からなる群より選択される配列と少なくとも98％の同一性を有する18Ｓ　ｒＤＮＡ配列を含む、本発明1019の変異ラビリンチュラ綱微生物。
[本発明1021]
配列番号5及び配列番号9から選択される配列、
配列番号6及び配列番号10から選択される配列、
配列番号7及び配列番号11から選択される配列、ならびに
配列番号8及び配列番号12から選択される配列
と少なくとも98％の同一性を有する18Ｓ　ｒＤＮＡ配列を含む、本発明1020の変異ラビリンチュラ綱微生物。
[本発明1022]
配列番号5及び配列番号9から選択される配列、
配列番号6及び配列番号10から選択される配列、
配列番号7及び配列番号11から選択される配列、ならびに
配列番号8及び配列番号12から選択される配列
と少なくとも98．5％の同一性を有する18Ｓ　ｒＤＮＡ配列を含む、本発明1021の変異ラビリンチュラ綱微生物。
[本発明1023]
ＮＲＲＬ番号50836として寄託された株、ＮＲＲＬ番号50837として寄託された株、またはそのいずれかの由来株である、本発明1022の変異ラビリンチュラ綱微生物。
[本発明1024]
本発明1016の前記変異微生物が含まれる、微生物バイオマス。
[本発明1025]
本発明1024の微生物バイオマスが含まれる、製品。
[本発明1026]
高脂質生産性を有する微生物由来株の選択方法であって、
脂質生産に関与する酵素または因子を阻害する少なくとも1種類の化合物を含むケモスタットまたはサイトスタットで原株の微生物を培養する工程と、
前記サイトスタットまたはケモスタットの培養物から、前記原株の微生物と比べて強化された脂質生産性をもつ少なくとも1種類の由来株微生物を分離する工程
を含む、前記方法。
[本発明1027]
前記由来株が、1種類以上のＦＡＭＥ脂質の増大した生産性を有している、本発明1026の方法。
[本発明1028]
前記由来株が、少なくとも1種類の多価不飽和脂肪酸の増大した生産性を有している、本発明1027の方法。
[本発明1029]
前記由来株が、ＡＲＡ、ＤＨＡまたはＥＰＡのうち少なくとも1つの増大した生産性を

有している、本発明1028の方法。
[本発明1030]
前記由来株が、ＤＨＡの増大した生産性を有している、本発明1029の方法。
[本発明1031]
前記由来株が、ミリスチン酸の増大した生産性を有している、本発明1027の方法。
[本発明1032]
脂質生産に関与する酵素を阻害する前記化合物が、没食子酸アルキル、没食子酸プロピル、カプサイシン、セルレニン、クルクミン、シクロプロペン、ジフェニルアミン、ノルフルラゾン、ピリダジノン、セトキシジム、トルイル酸、トリクロサン、3－デシノイル－ＮＡＣ、ジアザボリン、イソニアジド、チオラクトマイシン、ＳＢＰＴ04、ＢＰ1、ＴＯＦＡ、ソラフェンＡ、セサミン、セサモール、クルクミン、シクロエート、チオカルバメート、スルホキシド、リンゴ酸塩、1種類以上の脂肪酸、キャノーラ油、ピーナッツ油、またはゴマ油を含む、本発明1026の方法。
[本発明1033]
前記培養する工程がサイトスタット培養である、本発明1026の方法。
[本発明1034]
前記ケモスタットまたはサイトスタット培養の前に、少なくとも1回の変異誘発手順を実施する工程をさらに含む、本発明1026の方法。
[本発明1035]
前記少なくとも1回の変異誘発手順には、化学的変異原、ガンマ線照射、またはＵＶ照射による処置が含まれる、本発明1034の方法。
[本発明1036]
脂質生産に関与する酵素または因子を阻害する少なくとも1種類の化合物を含むケモスタットまたはサイトスタットで前記原微生物株を培養する前に、脂質生産に関与する酵素を阻害する化合物の非存在下でケモスタットまたはサイトスタットで前記原微生物株を培養する工程と、前記対象微生物株と比べて強化された増殖率を有する少なくとも1種類の対象微生物株バリアントを分離する工程とをさらに含む、本発明1035の方法。
[本発明1037]
強化された脂質生産性を有する前記少なくとも1種類の微生物由来株の分離後に、前記微生物由来株をＵＶ処置する工程と、さらに強化された脂質生産性を有するＵＶ処置済み由来株を選択する工程とをさらに含む、本発明1036の方法。
[本発明1038]
前記さらに強化された脂質生産性を有するＵＶ処置済み由来株を選択する工程には、前記ＵＶ処置済み由来株をサイトスタットまたはケモスタットで培養することが含まれる、本発明1037の方法。
[本発明1039]
2回以上の変異誘発手順を実施し、少なくとも1回の変異誘発手順の後にサイトスタットまたはケモスタット選択を実施する、本発明1026～1038のいずれかの方法。
[本発明1040]
2回以上の変異誘発手順を実施し、各変異誘発手順の後にサイトスタットまたはケモスタット選択を実施する、本発明1039の方法。
[本発明1041]
前記サイトスタットまたはケモスタット選択では、脂質生産に関与する酵素または因子を阻害する少なくとも1種類の化合物がサイトスタットまたはケモスタット培養中に含まれる、本発明1039または本発明1040の方法。
[本発明1042]
前記少なくとも1種類の第1の微生物由来株が、1回目の変異誘発手順後に、脂質生産に関与する酵素または因子を阻害する第1の化合物を含むサイトスタットまたはケモスタットで選択され、少なくとも1種類の第2の微生物由来株が、2回目の変異誘発手順後に、脂質生産に関与する酵素または因子を阻害する第2の化合物を含むサイトスタットまたはケ

モスタットで選択される、本発明1041の方法。
[本発明1043]
変異微生物の形質の強化方法であって、
微生物を変異誘発して、変異誘発済み微生物の集団を得る工程と、
前記変異誘発済み微生物を少なくとも1種類の関心対象の形質について選択して、少なくとも1種類の関心対象の形質を有する少なくとも1種類の変異微生物を得る工程と、
前記少なくとも1種類の変異微生物をＵＶ処置して、強化された関心対象の形質を有する少なくとも1種類のＵＶ処置済み変異体を得る工程と
を含む、前記方法。
[本発明1044]
前記変異誘発には、化学的変異原、ガンマ線照射、またはＵＶ照射での処置が含まれる、本発明1043の方法。
[本発明1045]
少なくとも1種類の関心対象の形質には、増殖率、バイオマス蓄積度、産物の生産率、産物の生産量、1種類以上の化合物に対する抵抗性もしくは耐性、または温度耐性が含まれる、本発明1044の方法。
[本発明1046]
少なくとも1種類の関心対象の形質には、脂質の生産率が含まれる、本発明1045の方法。
[本発明1047]
少なくとも1種類の関心対象の形質には、多価不飽和脂肪酸（ＰＵＦＡ）の生産率が含まれる、本発明1046の方法。
[本発明1048]
前記選択することには、野生型細胞の増殖を阻害する化合物の存在下での増殖が含まれる、本発明1043の方法。
[本発明1049]
前記選択することには、ケモスタットまたはサイトスタットでの増殖が含まれる、本発明1048の方法。
[本発明1050]
前記選択することには、1種類以上の変異誘発済み微生物により生産された産物の量を検定することが含まれる、本発明1043の方法。
[本発明1051]
前記少なくとも1種類の変異微生物をＵＶ処置した後に、前記少なくとも1種類のＵＶ処置済み変異体をサイトスタットまたはケモスタットで培養する工程をさらに含む、本発明1043の方法。