



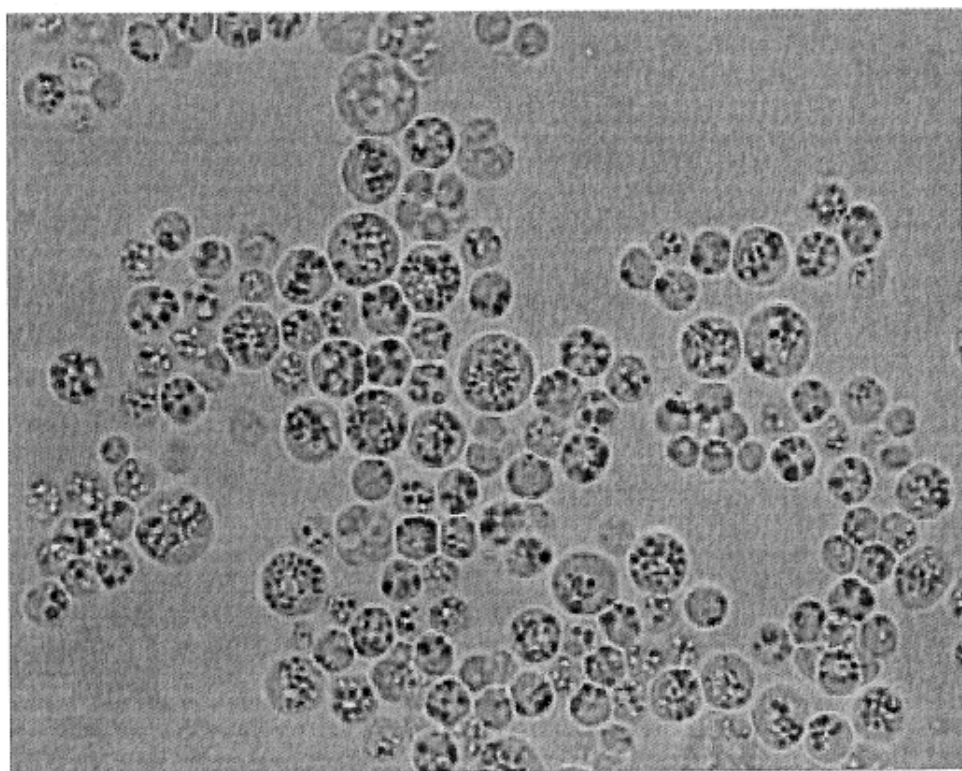
- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) 
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
1-0052499
(51)^{2022.01} C12N 1/12; C12R 1/89; C12P 7/64; (13) B
A23K 10/16
-

- (21) 1-2023-03554 (22) 08/11/2021
(86) PCT/KR2021/016156 08/11/2021 (87) WO 2022/124590 16/06/2022
(30) 10-2020-0169850 07/12/2020 KR
(45) 27/10/2025 451 (43) 27/11/2023 428A
(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, Republic of Korea
(72) CHOI, Jung Woon (KR); JANG, Sung Hoon (KR); KIM, Ji Young (KR); SHIN,
Won Sub (KR); KANG, Hae Won (KR).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

- (54) VI TẢO THUỘC CHI SCHIZOCHYTRIUM, SINH KHỐI CÓ NGUỒN GỐC TỪ
VI TẢO THUỘC CHI SCHIZOCHYTRIUM, VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ
CHÚNG

(21) 1-2023-03554

(57) Sáng chế đề cập đến vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* (*Schizochytrium* sp.) và phương pháp điều chế sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*. Vi tảo *Schizochytrium* sp. mới, theo một khía cạnh, có hàm lượng chất béo cao trong số sinh khối và cụ thể là có hàm lượng axit béo đa bất bão hòa cao, chẳng hạn như axit docosahexaenoic (DHA) và axit eicosapentaenoic (EPA), và do đó vi tảo đã nêu, và sinh khối hoặc dầu sinh học được sản xuất từ đó có thể được sử dụng một cách hữu dụng làm nguyên liệu thức ăn chăn nuôi thô, v.v..



Hình 1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các chủng mới thuộc chi *Schizochytrium* (*Schizochytrium* sp.) và phương pháp sản xuất các axit béo đa bất bão hòa bằng việc sử dụng chủng này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các axit béo bất bão hòa là các axit béo có một hoặc nhiều liên kết đôi trong chuỗi axit béo, và các axit béo bất bão hòa bao gồm hai hoặc nhiều liên kết đôi được gọi là các axit béo đa bất bão hòa (PUFA). Trong số các axit béo đa bất bão hòa, axit docosahexaenoic (DHA) và axit eicosapentaenoic (EPA) là các axit béo omega-3 điển hình, mà là thiết yếu cho não, mô mắt, và hệ thần kinh. Ngoài ra, chúng được biết là đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của hệ thần kinh, chẳng hạn như thị lực và khả năng thần kinh vận động ở trẻ sơ sinh, và ngăn ngừa các bệnh tim mạch, và là thành phần phong phú nhất trong các lipid cấu trúc của não.

Hầu hết các sinh vật bậc cao, bao gồm con người, không thể tự tổng hợp các axit béo đa bất bão hòa, vì vậy các axit béo đa bất bão hòa phải được tiêu thụ như các chất dinh dưỡng thiết yếu, và chủ yếu được cung cấp từ cá biển sâu, mà chiếm các thứ bậc cao trong môi trường sinh thái biển, chẳng hạn như cá ngừ và cá hồi. Nguồn công nghiệp chính của các axit béo đa bất bão hòa được xác định cho đến nay là dầu cá được chiết xuất từ dầu của cá xanh chẳng hạn như cá thu, cá thu đao, cá ngừ, cá thu ngựa, cá mòi, và cá trích, mà cũng là những loại thức ăn chăn nuôi rất hữu ích cho cá chẳng hạn như thức ăn chăn nuôi ban đầu cho cá nước mặn. Tuy nhiên, chất lượng dầu cá khác nhau tùy thuộc vào loài, mùa vụ và địa điểm đánh bắt, và có khó khăn trong việc cung cấp dầu cá liên tục, và do các vấn đề ô nhiễm dầu cá bởi các kim loại nặng và các hóa chất hữu cơ, mùi tanh đặc trưng của dầu cá, và việc sản xuất hạn chế do sự oxy hóa của các liên kết đôi trong các quá trình xử lý, nhu cầu về các nguồn axit béo đa bất bão hòa thay thế đang nổi lên.

Để giải quyết các vấn đề này, nghiên cứu về các phương pháp sản xuất các axit béo đa bất bão hòa bao gồm axit docosahexaenoic bằng nuôi cấy vi sinh hiện đang được

tiến hành. Cụ thể là, vi tảo có thể sản xuất các lipit và được nuôi cấy dễ dàng, cho phép sản xuất sinh khối có thành phần hóa sinh tương đối không đổi. Ngoài ra, các lipit được sản xuất bởi vi tảo không có mùi khó chịu như dầu cá, và có thành phần axit béo đơn giản hơn so với dầu cá, do đó có thể dễ dàng phân tách các axit béo cụ thể. Theo đó, vi tảo mới có khả năng cung cấp ổn định axit béo cụ thể ở mức độ cao có giá trị lớn về mặt công nghiệp, và do đó, cần phát triển vi tảo này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là đề xuất vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* (*Schizochytrium* sp.) mà được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP; và có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic (DHA), axit eicosapentaenoic (EPA), và axit palmitic (PA).

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* và chế phẩm thức ăn chăn nuôi bao gồm sinh khối này.

Một mục đích khác nữa của sáng chế là đề xuất phương pháp điều chế sinh khối hoặc dầu sinh học có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*.

Giải pháp kỹ thuật

Mỗi phần mô tả và phương án được bộc lộ trong sáng chế này cũng có thể được áp dụng cho các phần mô tả và các phương án khác. Nghĩa là, tất cả sự kết hợp của các yếu tố khác nhau được bộc lộ trong sáng chế đều nằm trong phạm vi của sáng chế. Ngoài ra, không nên coi rằng phạm vi bảo hộ của sáng chế bị giới hạn ở phần mô tả chi tiết được mô tả dưới đây. Ngoài ra, người có trình độ trung bình trong lĩnh vực sẽ nhận ra, hoặc xác nhận nhiều điểm tương đương với các khía cạnh cụ thể của sáng chế được mô tả ở đây, bằng cách sử dụng chỉ các thí nghiệm đã biết trong lĩnh vực. Ngoài ra, các tương đương như vậy dự định là được bao gồm trong sáng chế.

Một khía cạnh đề xuất vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic, axit eicosapentaenoic, và axit palmitic; và được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP.

Thuật ngữ “Thraustochytrid”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ vi tảo từ bộ Thraustochytriales. Ngoài ra, thuật ngữ “chi *Schizochytrium* (*Schizochytrium* sp.)”,

được sử dụng ở đây, là một trong các tên gọi chi thuộc về họ Thraustochytriaceae của bộ Thraustochytriales, và có thể được sử dụng thay thế cho nhau với thuật ngữ “chi *Schizochytrium*”. Ngoài ra, thuật ngữ “vi tảo” dùng để chỉ các sinh vật mà quang hợp với chất diệp lục, mà sống trôi nổi tự do trong nước, mà không thể nhìn thấy bằng mắt thường mà chỉ có thể nhìn thấy qua kính hiển vi, và vi tảo còn được gọi là thực vật phù du.

Thuật ngữ “axit docosaehexaenoic (DHA)”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ một trong các axit béo đa bất bão hòa có công thức là $C_{22}H_{32}O_2$, và là một trong các axit béo omega-3 cùng với axit alpha-linolenic (ALA) và axit eicosapentaenoic (EPA), tên thông thường của nó là axit cervonic, và cũng có thể được viết dưới dạng 22:6 n-3 như viết tắt.

Thuật ngữ “axit eicosapentaenoic (EPA)”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ một trong các axit béo đa bất bão hòa có công thức là $C_{20}H_{30}O_2$, và là một trong các axit béo omega-3 cùng với ALA và DHA, và cũng có thể được viết dưới dạng 20:5 n-3 như viết tắt.

Thuật ngữ “axit palmitic (PA)”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ một trong các axit béo bất bão hòa có công thức là $C_{16}H_{32}O_2$.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể là vi tảo kiểu đại mới CD01-5000 thuộc chi *Schizochytrium* được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc biến thể của nó, vi tảo CD01-5004 thuộc chi *Schizochytrium* được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14345BP.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể có trình tự nucleotit 18S rARN có SEQ ID NO: 1, nhưng không bị giới hạn ở đó. Ví dụ, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể có 18S rARN chứa trình tự nucleotit thể hiện độ tương đồng trình tự với trình tự nucleotit có SEQ ID NO: 1 là 80% hoặc lớn hơn, 85% hoặc lớn hơn, 90% hoặc lớn hơn, 95% hoặc lớn hơn, 98% hoặc lớn hơn, hoặc 99% hoặc lớn hơn, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể sản xuất 35% theo khối lượng đến 60% theo khối lượng DHA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo. Ví dụ, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể sản xuất 40% theo khối lượng đến 60% theo khối lượng, 45% theo khối lượng đến 60% theo khối lượng, 50% theo khối lượng đến 60% theo khối lượng, 35% theo khối lượng đến 58% theo khối lượng, 40% theo khối lượng đến 58%

theo khối lượng, 45% theo khối lượng đến 58% theo khối lượng, hoặc 50% theo khối lượng đến 58% theo khối lượng DNA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo. Ngoài ra, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể bao gồm 35% theo khối lượng đến 60% theo khối lượng DHA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể sản xuất 0,5% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng EPA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo. Ví dụ, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể sản xuất 0,5% theo khối lượng đến 8% theo khối lượng, 0,5% theo khối lượng đến 5% theo khối lượng, 0,5% theo khối lượng đến 3% theo khối lượng, 0,8% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng, 0,8% theo khối lượng đến 8% theo khối lượng, 0,8% theo khối lượng đến 5% theo khối lượng, 0,8% theo khối lượng đến 3% theo khối lượng, 1% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng, 1% theo khối lượng đến 8% theo khối lượng, 1% theo khối lượng đến 5% theo khối lượng, hoặc 1% theo khối lượng đến 3% theo khối lượng EPA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo. Ngoài ra, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể bao gồm 0,5% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng EPA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể sản xuất 10% theo khối lượng đến 30% theo khối lượng PA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo. Ví dụ, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể sản xuất 15% theo khối lượng đến 30% theo khối lượng, hoặc 20% theo khối lượng đến 30% theo khối lượng PA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo. Ngoài ra, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể bao gồm 10% theo khối lượng đến 30% theo khối lượng PA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể có khả năng sản xuất carotenoid. Ví dụ, vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể sản xuất ít nhất một trong số các chất được lựa chọn từ nhóm gồm có β -caroten, lutein, astaxanthin, capsanthin, annatto, canthaxanthin, lycopene, β -apo-8-carotenal, zeaxanthin, và β -apo-8-carotenal-este.

Thuật ngữ “carotenoid”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ sắc tố của terpenoid được tổng hợp từ phytoene bao gồm 40 nguyên tử carbon, và được sản xuất từ các vi sinh vật chẳng hạn như vi tảo và vi khuẩn, hoặc nấm chẳng hạn như mốc và nấm, và các sinh vật bậc cao hơn. Các carotenoid được sử dụng rộng rãi làm thức ăn chăn nuôi hoặc các phụ gia thực phẩm vì màu sắc độc đáo của chúng, và có tác dụng chống oxy hóa mạnh do chuỗi liên kết đôi dài và nhóm xeton ($C=O$) hoặc nhóm hydroxyl ($-OH$) của

chúng, do đó, cũng được nghiên cứu làm các thuốc và các thực phẩm sức khỏe. Các carotenoid bao gồm β -caroten, lutein, astaxanthin, capsanthin, annatto, canthaxanthin, lycopene, β -apo-8-carotenal, zeaxanthin, hoặc β -apo-8-carotenal-este, v.v..

Các khía cạnh khác đề xuất: vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic, axit eicosapentaenoic, và axit palmitic; và sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* bao gồm các mẻ nuôi cấy của vi tảo, các sản phẩm khô của các mẻ nuôi cấy, hoặc các dạng ly giải của các sản phẩm khô.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* là như được mô tả ở trên.

Thuật ngữ “sinh khối”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ các sinh vật chẳng hạn như các thực vật, các động vật và các vi sinh vật mà có thể được sử dụng làm năng lượng hóa học, nghĩa là, nguồn năng lượng của năng lượng sinh học, và về mặt sinh thái dùng để chỉ khối lượng hoặc lượng năng lượng của sinh vật cụ thể mà tồn tại trong một đơn vị thời gian và không gian. Ngoài ra, sinh khối bao gồm, nhưng không được giới hạn ở, các hợp chất được tiết bởi các tế bào, và có thể chứa các tế bào và/hoặc các thành phần nội bào cũng như các nguyên liệu ngoại bào. Theo sáng chế, sinh khối có thể là chính vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, mẻ nuôi cấy của nó, sản phẩm khô của nó, dạng ly giải của nó, hoặc sản phẩm được sản xuất bằng việc nuôi cấy hoặc lên men vi tảo, hoặc có thể là dịch cô hoặc sản phẩm khô của sinh khối, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Thuật ngữ “mẻ nuôi cấy” của vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* dùng để chỉ sản phẩm được sản xuất bằng việc nuôi cấy vi tảo, cụ thể là, thuật ngữ có thể dùng để chỉ môi trường nuôi cấy bao gồm vi tảo hoặc dịch lọc nuôi cấy trong đó vi tảo được loại bỏ khỏi môi trường nuôi cấy, nhưng không bị giới hạn ở đó. “Sản phẩm khô” của môi trường nuôi cấy của vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể là sản phẩm trong đó độ ẩm đã được loại bỏ khỏi môi trường nuôi cấy của vi tảo ví dụ, dưới dạng các tế bào khô của vi tảo, nhưng không bị giới hạn ở đó. Ngoài ra, “dạng ly giải” của sản phẩm khô là thuật ngữ chung để chỉ các sản phẩm tạo thành từ việc nghiền nguyên liệu khô trong đó độ ẩm được loại bỏ khỏi môi trường nuôi cấy của vi tảo, và có thể là, ví dụ, bột của các tế bào khô, nhưng không bị giới hạn ở đó. Mẻ nuôi cấy của vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể được điều chế bằng việc cấy vi tảo trong môi trường nuôi cấy vi tảo và nuôi cấy theo các phương pháp nuôi cấy đã biết trong lĩnh vực, và các sản phẩm khô của mẻ nuôi

cây và các dạng ly giải của nó có thể được điều chế bằng các phương pháp xử lý, hoặc làm khô vi tảo hoặc môi trường nuôi cấy đã biết trong lĩnh vực.

Sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể bao gồm 35% theo khối lượng đến 60% theo khối lượng DHA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo, có thể bao gồm 0,5% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng EPA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo, và có thể bao gồm 10% theo khối lượng đến 30% theo khối lượng PA, trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo.

Ngoài ra, sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể bao gồm các carotenoid, ví dụ, ít nhất một trong số các chất được lựa chọn từ nhóm gồm có β -caroten, lutein, astaxanthin, capsanthin, annatto, canthaxanthin, lycopene, β -apo-8-carotenal, zeaxanthin, và β -apo-8-carotenal-este.

Sinh khối có thể được sản xuất bằng phương pháp sản xuất sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* theo một khía cạnh.

Một khía cạnh khác đề xuất chế phẩm bao gồm vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, các mẻ nuôi cấy của vi tảo, các sản phẩm khô của các mẻ nuôi cấy, hoặc các dạng ly giải của các sản phẩm khô, vi tảo được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosaheptaenoic, axit eicosapentaenoic, và axit palmitic. Chế phẩm có thể bao gồm sinh khối hoặc dầu sinh học có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*.

Một khía cạnh khác đề xuất chế phẩm thức ăn chăn nuôi bao gồm sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, hoặc các dịch cô hoặc các sản phẩm khô của sinh khối, vi tảo được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosaheptaenoic, axit eicosapentaenoic, và axit palmitic.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, sinh khối, mẻ nuôi cấy của vi tảo, sản phẩm khô của mẻ nuôi cấy, và dạng ly giải của sản phẩm khô là như được mô tả ở trên.

Dịch cô hoặc sản phẩm khô của sinh khối có thể được điều chế theo các phương pháp xử lý, cô, hoặc làm khô sinh khối vi sinh đã biết trong lĩnh vực.

Thuật ngữ “dầu sinh học”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ dầu thu được từ sinh khối bằng các quy trình chiết xuất sinh học, nhiệt hóa học và hóa lý, và dầu sinh học

được điều chế theo sáng chế có thể chứa các axit béo đa bất bão hòa, cụ thể là, có thể chứa DHA và EPA, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Chế phẩm có thể có dạng dung dịch, bột, hoặc huyền phù, nhưng không bị giới hạn ở đó. Chế phẩm có thể là, ví dụ, chế phẩm thực phẩm, chế phẩm thức ăn chăn nuôi, hoặc chế phẩm phụ gia thức ăn chăn nuôi.

Thuật ngữ “chế phẩm thức ăn chăn nuôi”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ thức ăn chăn nuôi được cấp cho các động vật. Chế phẩm thức ăn chăn nuôi dùng để chỉ nguyên liệu cung cấp các chất dinh dưỡng hữu cơ hoặc vô cơ cần thiết để duy trì sự sống của động vật, hoặc sản xuất thịt, sữa, và tương tự. Chế phẩm thức ăn chăn nuôi có thể ngoài ra bao gồm chất dinh dưỡng cần thiết để duy trì sự sống của động vật hoặc sản xuất thịt, sữa, và tương tự. Chế phẩm thức ăn chăn nuôi có thể được điều chế làm các thức ăn chăn nuôi dưới các dạng khác nhau đã biết trong lĩnh vực, và cụ thể là, các dạng có thể bao gồm các thức ăn chăn nuôi cô đặc, các thức ăn chăn nuôi thô, và/hoặc các thức ăn chăn nuôi đặc biệt.

Thuật ngữ “phụ gia thức ăn chăn nuôi”, được sử dụng ở đây, bao gồm hợp chất được thêm vào thức ăn chăn nuôi cho các mục đích khác nhau, chẳng hạn như bổ sung chất dinh dưỡng, ngăn ngừa giảm cân, tăng tỷ lệ tiêu hóa chất xơ trong thức ăn chăn nuôi, cải thiện chất lượng dầu, ngăn ngừa rối loạn sinh sản, cải thiện tỷ lệ đậu thai, ngăn ngừa căng thẳng do nhiệt độ cao trong mùa hè v.v.. Phụ gia thức ăn chăn nuôi của sáng chế tương ứng với thức ăn chăn nuôi bổ sung theo Đạo luật quản lý thức ăn chăn nuôi và có thể ngoài ra bao gồm các chế phẩm khoáng chẳng hạn như natri bicarbonat, bentonit, magie oxit, các khoáng phức, v.v., các chế phẩm khoáng dạng vết chẳng hạn như kẽm, đồng, coban, selen, v.v., các chế phẩm vitamin chẳng hạn như caroten, vitamin E, các vitamin A, D, E, axit nicotinic, phức vitamin B, v.v., các chế phẩm axit amin được bảo vệ chẳng hạn như methionin và lysin, v.v., các axit béo được bảo vệ chẳng hạn như các muối canxi axit béo, v.v., vi khuẩn sống chẳng hạn như lợi khuẩn (probiotic) (vi khuẩn axit lactic), các mẻ nuôi cấy nấm men, các sản phẩm lên men nấm mốc, v.v., các nấm men, v.v.

Thuật ngữ “chế phẩm thực phẩm”, được sử dụng ở đây, bao gồm tất cả các dạng thực phẩm chức năng, thực phẩm bổ sung dinh dưỡng, thực phẩm bảo vệ sức khỏe, và phụ gia thực phẩm, v.v., và các loại chế phẩm thực phẩm khác có thể được điều chế

trong các dạng khác nhau theo phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực.

Các chế phẩm của sáng chế có thể ngoài ra còn bao gồm các hạt chẳng hạn như lúa mì, yến mạch, lúa mạch, ngô và gạo xay hoặc nghiền; các thức ăn chăn nuôi protein thực vật chẳng hạn như các thức ăn chăn nuôi có đậu nành và hướng dương là các nguyên liệu chính; thức ăn chăn nuôi protein động vật chẳng hạn như bột máu, bột thịt, bột xương và bột cá; đường và các sản phẩm từ sữa, ví dụ, các nguyên liệu khô bao gồm nhiều loại sữa bột và bột whey khác nhau, v.v., và có thể ngoài ra còn bao gồm các chất bổ sung dinh dưỡng, các chất tăng cường tiêu hóa và hấp thu, các chất kích thích tăng trưởng, v.v..

Chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng riêng cho động vật hoặc kết hợp với các chất phụ gia thức ăn chăn nuôi khác trong chất mang ăn được. Ngoài ra, chế phẩm có thể được dùng dễ dàng cho động vật dưới dạng rắc lên hoặc bằng cách trộn trực tiếp vào thức ăn chăn nuôi, hoặc dưới dạng công thức dùng qua đường miệng tách biệt với thức ăn chăn nuôi. Khi chế phẩm được dùng riêng biệt với thức ăn chăn nuôi, chế phẩm có thể được điều chế ở dạng công thức giải phóng tức thời hoặc giải phóng kéo dài bằng cách kết hợp với chất mang ăn được được dụng như đã biết trong lĩnh vực. Chất mang ăn được như vậy có thể có dạng rắn hoặc lỏng, và có thể là ví dụ, tinh bột ngô, lactoza, sucroza, các vảy đậu nành, dầu đậu phộng, dầu ô liu, dầu mè và propylen glycol. Khi chất mang rắn được sử dụng, chế phẩm có thể là viên nén, viên nang, bột, viên tròn nhỏ, hoặc viên nén chứa đường, hoặc lớp phủ trên cùng ở dạng vi phân tán. Khi chất mang dạng lỏng được sử dụng, chế phẩm có thể ở dạng viên nang mềm gelatin, hoặc xirô, huyền phù, nhũ tương hoặc dung dịch.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa, ví dụ, chất bảo quản, chất ổn định, chất làm ướt hoặc chất nhũ hóa, chất bảo vệ đông lạnh hoặc tá dược, v.v.. Chất bảo vệ đông lạnh có thể là ít nhất một chất được lựa chọn từ nhóm bao gồm glyxerol, trehaloza, maltodextrin, sữa bột gầy và tinh bột.

Chất bảo quản, chất ổn định hoặc tá dược có thể được bao gồm trong chế phẩm với lượng hữu hiệu đủ để làm giảm sự hư hỏng của vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* được bao gồm trong chế phẩm. Ngoài ra, chất bảo vệ đông lạnh có thể được bao gồm trong chế phẩm với lượng hữu hiệu đủ để làm giảm sự hư hỏng của vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* được bao gồm trong chế phẩm khi chế phẩm ở trạng thái khô.

Chế phẩm có thể được bổ sung vào thức ăn chăn nuôi bằng cách nhỏ giọt, phun hoặc trộn, và được sử dụng.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được áp dụng cho chế độ ăn của một số loài động vật bao gồm động vật có vú, chim, cá, động vật giáp xác, động vật chân đầu, bò sát, và lưỡng cư, nhưng không bị giới hạn ở đó. Ví dụ, các động vật có vú có thể bao lợn, bò, cừu, dê, động vật gặm nhấm trong phòng thí nghiệm, vật nuôi, v.v., chim có thể bao gồm gia cầm, và gia cầm có thể bao gồm gà, gà tây, vịt, ngỗng, gà lôi hoặc chim cút, v.v., nhưng không bị giới hạn ở đó. Ngoài ra, cá có thể bao gồm cá nuôi thương phẩm và cá con, cá cảnh, và tương tự, và giáp xác có thể bao gồm tôm, hàu, và tương tự, nhưng không bị giới hạn ở đó. Ngoài ra, chế phẩm này có thể được áp dụng cho chế độ ăn của luân trùng, mà là động vật phù du.

Một khía cạnh khác đề xuất phương pháp điều chế sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, bao gồm: nuôi cấy vi tảo; và thu hồi sinh khối từ vi tảo, các mẻ nuôi cấy của vi tảo, các sản phẩm khô của mẻ nuôi cấy, hoặc các dạng ly giải của các sản phẩm khô, trong đó vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic, axit eicosapentaenoic, và axit palmitic.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, sinh khối, mẻ nuôi cấy của vi tảo, sản phẩm khô của mẻ nuôi cấy, và dạng ly giải của sản phẩm khô là như được mô tả ở trên.

Thuật ngữ “nuôi cấy”, được sử dụng ở đây, có nghĩa là nuôi vi tảo trong các điều kiện môi trường được kiểm soát thích hợp. Các quy trình nuôi cấy theo sáng chế có thể được thực hiện theo các điều kiện nuôi cấy và môi trường thích hợp đã biết trong lĩnh vực. Các quy trình nuôi cấy này có thể dễ dàng được điều chỉnh và sử dụng bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực theo vi tảo được lựa chọn.

Cụ thể là, việc nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* theo sáng chế có thể được thực hiện trong các điều kiện dị dưỡng, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Thuật ngữ “dị dưỡng”, được sử dụng ở đây, dùng để chỉ chế độ dinh dưỡng dựa vào các chất hữu cơ thu được từ bên ngoài cơ thể như nguồn năng lượng hoặc nguồn dinh dưỡng, và là thuật ngữ trái ngược với “tự dưỡng”, và có thể được sử dụng thay thế cho nhau với thuật ngữ 'nuôi cấy tối'.

Việc nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể được thực hiện bằng phương pháp nuôi cấy theo mẻ đã biết, phương pháp nuôi cấy liên tục, phương pháp nuôi cấy theo mẻ, hoặc tương tự, nhưng không bị giới hạn cụ thể ở đó. Đối với môi trường và các điều kiện nuôi cấy khác được sử dụng để nuôi cấy vi tảo theo sáng chế, môi trường bất kỳ được sử dụng để nuôi cấy vi tảo trong lĩnh vực có thể được sử dụng mà không có giới hạn cụ thể. Cụ thể là, vi tảo theo sáng chế có thể được nuôi cấy trong môi trường trong lĩnh vực chứa các nguồn cacbon, các nguồn nitơ, các nguồn phospho, các hợp chất vô cơ, các axit amin, và/hoặc các vitamin, v.v., đồng thời kiểm soát nhiệt độ, độ pH, v.v., trong các điều kiện hiếu khí.

Cụ thể là, độ pH thích hợp (ví dụ, độ pH 5 đến 9, cụ thể là độ pH 6 đến 8, cụ thể nhất là độ pH 6,8) có thể được điều chỉnh bằng việc sử dụng hợp chất bazơ (ví dụ, natri hydroxit, kali hydroxit, hoặc amoni) hoặc hợp chất axit (ví dụ, axit phosphoric, hoặc axit sulfuric), nhưng không bị giới hạn ở đó.

Ngoài ra, để duy trì điều kiện hiếu khí của mẻ nuôi cấy, oxy hoặc khí chứa oxy có thể được bơm vào mẻ nuôi cấy, hoặc để duy trì trạng thái kỵ khí và vi hiếu khí, khí có thể không được bơm vào, hoặc khí nitơ, hydro, hoặc cacbon dioxit có thể được bơm vào, nhưng không giới hạn.

Ngoài ra, mẻ nuôi cấy có thể được duy trì ở nhiệt độ 20°C đến 45°C, hoặc 25°C đến 40°C, và có thể được nuôi cấy trong khoảng 10 giờ đến 160 giờ, nhưng không bị giới hạn ở đó. Ngoài ra, trong khi nuôi cấy, việc tạo bọt có thể được ngăn chặn bằng việc sử dụng chất chống tạo bọt chẳng hạn như polyglycol este của axit béo, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Nguồn cacbon được bao gồm trong môi trường được sử dụng trong việc nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể là ít nhất một trong số các chất được lựa chọn từ nhóm gồm có glucoza, fructoza, maltoza, galactoza, mannoza, sucroza, arabinoza, xyloza, và glyxerol, nhưng không bị giới hạn ở đó, và nguồn cacbon bất kỳ để nuôi cấy vi tảo có thể được sử dụng.

Nguồn nitơ được bao gồm trong môi trường được sử dụng trong việc nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* có thể là: i) ít nhất một nguồn nitơ hữu cơ được lựa chọn từ nhóm gồm có dịch chiết nấm men, dịch chiết thịt bò, pepton, và trypton, hoặc ii) ít nhất một nguồn nitơ vô cơ được lựa chọn từ nhóm gồm có amoni axetat, amoni nitrat,

amoni clorua, amoni sulfat, natri nitrat, ure, và mononatri glutamat (MSG), nhưng không bị giới hạn ở đó, và nguồn nitơ bất kỳ được sử dụng để nuôi cấy vi tảo có thể được sử dụng.

Trong môi trường được sử dụng trong việc nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, làm nguồn phospho, kali dihydro phosphat, dikali hydro phosphat, các muối chứa natri tương ứng với chúng có thể được bao gồm một cách tách biệt hoặc được trộn lẫn, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Việc thu hồi sinh khối từ vi tảo, mẽ nuôi cấy của vi tảo, sản phẩm khô của mẽ nuôi cấy, hoặc dạng ly giải của sản phẩm khô có thể là việc thu thập sinh khối mong muốn bằng việc sử dụng phương pháp thích hợp đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, ly tâm, lọc, sắc ký trao đổi anion, kết tinh, và sắc ký lỏng hiệu quả cao (HPLC), v.v. có thể được sử dụng, và quy trình tinh sạch có thể được bao gồm thêm.

Một khía cạnh khác đề xuất phương pháp điều chế dầu sinh học có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, bao gồm: nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*; và thu hồi các lipid từ vi tảo, các mẽ nuôi cấy của vi tảo, các sản phẩm khô của mẽ nuôi cấy, hoặc các dạng ly giải của các sản phẩm khô, trong đó vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic, axit eicosapentaenoic, và axit palmitic.

Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, dầu sinh học, mẽ nuôi cấy của vi tảo, sản phẩm khô của mẽ nuôi cấy, và dạng ly giải của sản phẩm khô, và việc nuôi cấy vi tảo là như được mô tả ở trên.

Việc thu hồi các lipid từ vi tảo, mẽ nuôi cấy của vi tảo, sản phẩm khô của mẽ nuôi cấy, hoặc dạng ly giải của sản phẩm khô có thể là việc thu thập các lipid mong muốn bằng việc sử dụng phương pháp thích hợp đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, ly tâm, lọc, sắc ký trao đổi anion, kết tinh, và HPLC, v.v. có thể được sử dụng, và quy trình tinh sạch có thể được bao gồm thêm.

Ví dụ, các lipid và các dẫn xuất lipid chẳng hạn như các aldehyt béo, các rượu béo và các hydrocacbon (ví dụ, các alkan) có thể được chiết với dung môi kỵ nước chẳng hạn như hexan. Các lipid và các dẫn xuất lipid cũng có thể được chiết bằng việc sử dụng các phương pháp chẳng hạn như hóa lỏng, hóa lỏng dầu mỡ và chiết xuất CO₂ siêu tới

hạn, v.v. Ngoài ra, phương pháp đã biết để thu hồi các lipit vi tảo bao gồm, ví dụ, i) thu gom các tế bào bằng cách ly tâm, rửa bằng nước cất, và làm khô bằng phương pháp đông khô, và ii) nghiền bột tế bào thu được, và sau đó chiết các lipit bằng n-hexan (Miao, X and Wu, Q, Biosource Technology (2006) 97:841-846).

Các hiệu quả của sáng chế

Vi tảo mới thuộc chi *Schizochytrium* (*Schizochytrium* sp.) theo một khía cạnh có hàm lượng cao của chất béo trong sinh khối, và cụ thể là, hàm lượng cao của các axit béo đa bất bão hòa chẳng hạn như axit docosahexaenoic (DHA) và axit eicosapentaenoic (EPA), và do đó, vi tảo, và sinh khối hoặc dầu sinh học được điều chế từ đó có thể hữu ích như nguồn thức ăn chăn nuôi, v.v..

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh chụp của chủng *Schizochytrium* sp. CD01-5000 được quan sát dưới kính hiển vi quang học.

Hình 2 là biểu đồ các đường cong sinh trưởng của các chủng *Schizochytrium* sp. CD01-5000 và CD01-5004.

Hình 3 là biểu đồ đường cong sinh trưởng của chủng *Schizochytrium* sp. CD01-5004.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn thông qua các ví dụ. Tuy nhiên, những ví dụ này nhằm minh họa ít nhất một ví dụ cụ thể, và phạm vi của sáng chế không giới hạn ở những ví dụ này.

Ví dụ 1. Phân lập vi tảo mà là Thraustochytrids

Để phân lập vi tảo mà là Thraustochytrids, các mẫu môi trường ở dạng nước biển, đất và trầm tích được thu thập từ tổng số 50 khu vực ven biển ở Taean, Chungcheongnam-do và Gunsan, Jeollabuk-do, Hàn Quốc. Các mẫu môi trường thu thập được được vận chuyển đến môi trường phòng thí nghiệm, và các chất gây ô nhiễm chẳng hạn như nấm, các vi sinh vật vi khuẩn khác và động vật nguyên sinh, v.v. được loại bỏ trong vòng 7 ngày, trong khi việc trải trực tiếp và môi phần hoa thông được sử dụng để phân lập vi tảo mà là Thraustochytrids. Trong quá trình loại bỏ liên tục các chất gây ô nhiễm và phân lập vi tảo, các mẫu mà thể hiện các dạng tương tự như các tế bào

mà hình thành các động bào tử và bao gồm chúng, mà là các đặc trưng của vi tảo mà là Thraustochytrids, được phân lập, và được bồi lên môi trường pepton dịch chiết nấm men (YEP) được cải biến (1 g/L dịch chiết nấm men, 1 g/L pepton, 2 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 20 g/L muối biển, 5,0 mg/L H_3BO_3 , 3,0 mg/L MnCl_2 , 0,2 mg/L CuSO_4 , 0,05 mg/L $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,05 mg/L CoSO_4 , 0,7 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, và 15 g/L thạch), môi trường để phân lập vi tảo biển. Các khuẩn lạc thu được được phân lập tinh khiết bằng cách nuôi cấy truyền vài lần. Các khuẩn lạc bị ô nhiễm dai dẳng được tiếp xúc với dung dịch hỗn hợp pha trộn kháng sinh (0 mg/L đến 100 mg/L streptomycin sulfat, 0 mg/L đến 100 mg/L ampicillin, 0 mg/L đến 100 mg/L penicillin G, và 0 mg/L đến 100 mg/L kanamycin sulfat) để kiểm soát và loại bỏ các chất gây ô nhiễm. Thông qua quy trình nêu trên, khoảng 50 khuẩn lạc được phân lập và được thu.

Các khuẩn lạc được phân lập tinh khiết được nuôi cấy trong bình 250 mL trong các điều kiện 10°C đến 35°C và 100 rpm đến 200 rpm trong khoảng 7 ngày, bằng việc sử dụng môi trường pepton dịch chiết nấm men glucoza (GYEP) được cải biến (10 g/L glucoza, 1 g/L dịch chiết nấm men, 1 g/L pepton, 2 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 20 g/L muối biển, 5,0 mg/L H_3BO_3 , 3,0 mg/L MnCl_2 , 0,2 mg/L CuSO_4 , 0,05 mg/L $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,05 mg/L CoSO_4 , và 0,7 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Trong số các khuẩn lạc, một loại vi tảo có khả năng phát triển ở nhiệt độ 25°C hoặc cao hơn, có tốc độ sinh trưởng tuyệt vời, và từ đó có thể bảo đảm đủ số lượng tế bào cuối cùng đã được chọn và được đặt tên là CD01-5000. Hình thái của chủng được lựa chọn được quan sát bằng cách sử dụng kính hiển vi quang học (Hình 1).

Ví dụ 2. Nhận dạng chủng *Schizochytrium* sp. mới CD01-5000

Cho việc nhận dạng sinh học phân tử của chủng vi tảo CD01-5000 được phân lập và được lựa chọn trong ví dụ 1, trình tự gen 18S rARN được phân tích.

Cụ thể là, sau khi chiết và phân tách gADN từ các khuẩn lạc của vi tảo được phân lập tinh khiết CD01-5000, phản ứng PCR được thực hiện bằng cách sử dụng các đoạn mồi được trình bày trong bảng 1 dưới đây làm các đoạn mồi để khuếch đại gen của vùng 18S rARN.

Bảng 1

Trình tự số	Đoạn mồi	Trình tự (5' - 3')
2	18s-001F	AACCTGGTTGATCCTGCCAGTA

3	18s-013R	CCTTGTTACGACTTCACCTTCCTCT
---	----------	---------------------------

Đối với phản ứng PCR, biến tính ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là biến tính ở 95°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây, và trùng hợp ở 72°C trong 1 phút 30 giây, được lặp lại 38 lần, và sau đó trùng hợp được thực hiện ở 72°C trong 5 phút, bằng cách sử dụng dung dịch phản ứng chứa các taq polymeraza. Dung dịch phản ứng được khuếch đại thông qua quy trình PCR được điện di trên gel agarose 1% để xác nhận rằng các đoạn ADN có kích thước khoảng 1600 bp đến 2000 bp được khuếch đại, và việc phân tích trình tự được thực hiện. Theo kết quả phân tích, trình tự nucleotit có kích thước khoảng 1800 bp (SEQ ID NO: 1) được thu, và trình tự tương ứng được xác nhận là thể hiện độ tương đồng là 99,3% với trình tự nucleotit 18S rARN của chủng *Schizochytrium limacinum* OUC192 (NCBI số đăng ký: HM042913.2) thuộc về vi tảo mà là Thraustochytrids, và độ tương đồng là 99,3% với trình tự nucleotit 18S rARN của chủng *Schizochytrium sp.* SH104 (NCBI số đăng ký: KX379459.1) thông qua các tìm kiếm NCBI BLAST. Qua đó, được xác nhận rằng vi tảo CD01-5000 được phân lập là chủng mới thuộc chi *Schizochytrium*, và chủng được đặt tên là *Schizochytrium sp.* CD01-5000, và vào 26/10/2020, được lưu mẫu ở Bộ sưu tập nuôi cấy loại Hàn Quốc (KCTC), tổ chức lưu mẫu quốc tế theo hiệp ước Budapest, và được cấp số đăng ký là KCTC14344BP.

Ví dụ 3. Phát triển các chủng vi tảo đột biến

Ví dụ 3-1. Đo tỷ lệ tử vong theo chiếu xạ các tia gamma

Để phát triển chủng đột biến nhân tạo từ vi tảo mới CD01-5000 được nhận dạng trong ví dụ 2, các điều kiện chiếu gamma được lựa chọn bằng cách đo các tỷ lệ tử vong theo các liều lượng của các tia gamma.

Cụ thể là, vi tảo mới CD01-5000 được nuôi cấy trong môi trường GYEP được cải biến chứa 3% glucoza trong khoảng 20 giờ hoặc lâu hơn để đạt được pha cấp số nhân. Mẫu môi trường nuôi cấy tế bào được nuôi cấy được ly tâm ở 4000 rpm trong 15 phút để thu hoạch các tế bào, và mẫu môi trường nuôi cấy vi tảo được tạo huyền phù trong PBS tới 10^9 tế bào/mL được đặt trong ống hình nón 50 mL và được sử dụng cho các thí nghiệm chiếu gamma. Các thí nghiệm chiếu gamma được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu Bức xạ Tiên tiến của Viện Nghiên cứu Năng lượng Nguyên tử Hàn Quốc, và các tia gamma 2000 Gy, 2500 Gy, 3000 Gy, 3500 Gy, 4000 Gy, 4500 Gy, 5000 Gy, 5500 Gy, 6000 Gy, 7000 Gy, hoặc 8000 Gy được chiếu vào mẫu môi trường

nuôi cấy vi tảo. Sau khi loại bỏ dịch nổi bằng cách ly tâm mẫu môi trường nuôi cấy vi tảo được chiếu với các tia gamma, mẫu được cấy vào môi trường GCBS chứa 1% glucoza (10 g/L glucoza, 5 g/L rượu ngâm ngô, 5 g/L dịch chiết thịt bò, 5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15 g/L muối biển, 20,08 mg/L axit xitric, 5,3 mg/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0 mg/L MnCl_2 , 0,1 mg/L CuSO_4 , 0,1 mg/L $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1 mg/L CoSO_4 , 1,0 mg/L biotin, 1,0 mg/L thiamin hydroclorua, 1,0 mg/L CAPA, và 0,1 mg/L vitamin B12) và được nuôi cấy ở 30°C trong khoảng 48 giờ. Sau đó, môi trường nuôi cấy được cấy và bồi lên môi trường GYEP chứa 2% (20 g/L) thạch, và được nuôi cấy ở 30°C trong 48 giờ, và sau đó số lượng các khuẩn lạc mọc được đếm và các tỷ lệ tử vong theo các liều lượng của các tia gamma được tính toán theo Công thức 1 sau đây.

Công thức 1

Tỷ lệ tử vong (%) = $\left[\frac{\{(\text{Số lượng các khuẩn lạc trong nhóm không được xử lý}) - (\text{Số lượng các khuẩn lạc trong nhóm được xử lý})\}}{(\text{Số lượng các khuẩn lạc trong nhóm không được xử lý})} \right] \times 100$

Bảng 2

Liều lượng tia gamma (Gy)	Số lượng các khuẩn lạc mọc (EA)	Tỷ lệ tử vong (%)
2000	≥ 90	-
2500	≥ 90	-
3000	≥ 90	-
3500	≥ 90	-
4000	≤ 10	90,5
4500	≤ 5	95,5
5000	≤ 3	98,89
5500	≤ 1	99,99
6000	0	100
7000	0	100
8000	0	100
Nhóm không được xử lý (Đối chứng)	≥ 90	0

Kết quả là, khi các tia gamma được chiếu với liều lượng 6000 Gy trở lên, tất cả vi tảo đều bị tiêu diệt và các khuẩn lạc không thể được đảm bảo, và điều kiện liều lượng tia gamma là 5500 Gy được lựa chọn, mà cho thấy tỷ lệ tử vong là 99,99%.

Ví dụ 3-2. Phân lập các chủng vi tảo đột biến

Sau khi chiếu các tia gamma ở liều lượng 5000 Gy lên chủng vi tảo mới CD01-5000 theo cùng cách như được mô tả trong ví dụ 3-1, các mẫu nuôi cấy vi tảo được cấy

và được bồi lên môi trường rắn GYEP và môi trường rắn GYEP được bổ sung butanol và isoniazid, tương ứng, và được nuôi cấy ở 30°C. Các khuẩn lạc vi tảo mọc trên mỗi đĩa rắn trong khoảng 4 tuần được lựa chọn và được phân tách bằng cách nuôi cấy truyền trong cùng các điều kiện nuôi cấy và môi trường. Mỗi khuẩn lạc được phân tách bằng nuôi cấy truyền được đánh giá là một chủng đột biến khác nhau, và các khuẩn lạc và các chủng có khả năng sinh trưởng liên tục được lựa chọn bổ sung.

Ví dụ 3-3. Lựa chọn các chủng vi tảo đột biến xuất sắc

Việc đánh giá nuôi cấy được thực hiện trên thang bình đối với các chủng đột biến được lựa chọn trong ví dụ 3-2, và chủng đột biến xuất sắc được lựa chọn thông qua các phân tích chất béo thô và các axit béo.

Cụ thể là, để nuôi cấy vi tảo kiểu đại mới CD01-5000 được xác nhận trong ví dụ 2 và vi tảo đột biến được lựa chọn trong ví dụ 3-2 trên thang bình, thể tích làm việc được thiết đặt thành 50 mL trong bình 500 mL và trong môi trường GYEP bao gồm 3% (30 g/L) glucoza, vi tảo được nuôi cấy ở 30°C và 180 rpm trong 24 giờ để thu được số lượng tế bào nhất định mà có thể được phân tích. Sau đó, môi trường nuôi cấy được ly tâm bằng cách sử dụng ống hình nón 50 mL, sau đó dịch nổi được loại bỏ, và các tế bào được thu thập và được rửa ba lần bằng PBS có độ pH 7,5, và sau đó được sấy khô trong tủ sấy khô ở 60°C qua đêm để thu được mỗi nhóm của các tế bào khô.

8,3 M của dung dịch axit hydroclorua được bổ sung vào 2 g mỗi nhóm của các tế bào khô thu được để thủy phân các thành tế bào của các tế bào vi tảo ở 80°C, và sau đó các quy trình bổ sung 30 mL etyl ete và 20 mL ete dầu hỏa, trộn lẫn trong 30 giây, và sau đó ly tâm, được lặp lại ba lần hoặc nhiều hơn. Lớp dung môi được phân tách được thu gom, được chuyển vào bình cầu tròn được cân trước, và sau đó dung môi được loại bỏ bằng cách sục nitơ và được sấy khô trong bình hút ẩm cho đến khi khối lượng trở nên không đổi. Khối lượng của dầu khô được đo bằng cách lấy khối lượng của bình sau khi sấy khô trừ đi khối lượng của bình rỗng. Ngoài ra, dầu khô thu được được xử lý trước bằng 0,5N của NaOH metanol và 14% trifloboran metanol (BF₃), và sau đó các hàm lượng của axit palmitic (PA), axit eicosapentaenoic (EPA), và axit docosahexaenoic (DHA) được bao gồm trong dầu được đo bằng việc sử dụng sắc ký khí, và hàm lượng được tính toán dưới dạng phần trăm so với tổng lượng dầu, nghĩa là, khối lượng của chất béo thô.

Bảng 3

Chủng	Hàm lượng axit béo trên cơ sở chất béo thô (khối lượng/khối lượng%)		
	PA	EPA	DHA
Kiểu đại (CD01-5000)	26,3	1,1	52,7
Biến thể 1	23,4	0,5	17,6
Biến thể 2	25,9	0,9	26,5
Biến thể 3 (CD01-5004)	26,2	1,4	56,3
Biến thể 4	28,3	1,3	22,7
Biến thể 5	28,1	1,5	25,2
Biến thể 6	28,2	1,2	21,4
Biến thể 7	29,0	1,5	22,9
Biến thể 8	25,1	1,1	34,8
Biến thể 9	11,8	0,6	11,5
Biến thể 10	25,1	1,1	20,7
Biến thể 11	24,4	0,7	33,0
Biến thể 12	29,7	0,8	18,0
Biến thể 13	29,6	1,2	21,4
Biến thể 14	24,7	1,5	20,4
Biến thể 15	28,7	0,6	16,9
Biến thể 16	24,8	1,5	19,7
Biến thể 17	24,8	1,5	21,4
Biến thể 18	28,2	0,7	17,8
Biến thể 19	29,9	0,6	17,9
Biến thể 20	24,9	0,7	21,6
Biến thể 21	22,4	1,6	19,5
Biến thể 22	12,4	0,4	7,4

(Trong bảng 3, PA biểu thị axit palmitic, EPA biểu thị axit eicosapentaenoic, và DHA biểu thị axit docosahexaenoic)

Kết quả là, như được thể hiện trong bảng 3, chủng *Schizochytrium sp.* Mới CD01-5000 thể hiện hàm lượng DHA rất cao là 50% hoặc cao hơn, và các hàm lượng của axit palmitic và EPA cũng được thể hiện là cao hơn các biến thể khác. Ngoài ra, 'Biến thể 3' mà thể hiện hàm lượng DHA cao hơn chủng kiểu đại, và cũng thể hiện các hàm lượng axit palmitic và EPA cao hơn so với các biến thể khác, được lựa chọn là biến thể xuất sắc trong số các biến thể thí nghiệm, được đặt tên là *Schizochytrium sp.* CD01-5004, và vào 26/10/2020, được lưu mẫu ở Bộ sưu tập nuôi cấy loại Hàn Quốc (KCTC), tổ chức lưu mẫu quốc tế theo hiệp ước Budapest, và được cấp số đăng ký là KCTC14345BP.

Ví dụ 4. Xác nhận các đặc tính nuôi cấy của chủng *Schizochytrium sp.* kiểu đại CD01-

5000, và chủng *Schizochytrium sp.* đột biến CD01-5004

Các đặc tính nuôi cấy bổ sung của chủng *Schizochytrium sp.* kiểu đại mới CD01-5000, và đột biến của nó, chủng *Schizochytrium sp.* CD01-5004, được xác nhận.

Ví dụ 4-1. Phân tích sinh khối và hàm lượng axit béo

Chủng CD01-5000, chủng CD01-5004 và chủng *Schizochytrium sp.* ATCC20888, mà là nhóm đối chứng, được nuôi cấy trong thiết bị lên men 5 L, cho đến khi tổng thể tích đạt 3 L. Các chủng được nuôi cấy trong các điều kiện từ 20°C đến 35°C, 100 rpm đến 500 rpm và 0,5 vvm đến 1,5 vvm, trong môi trường GYEP bao gồm 5 g/L dịch chiết nấm men và 10 g/L pepton làm các nguồn nitơ, và các tế bào khô được thu từ môi trường nuôi cấy theo cùng cách như được mô tả trong ví dụ 3-3, và các hàm lượng của chất béo thô nội bào và các axit béo được phân tích.

Bảng 4

Chủng	Khối lượng của các tế bào khô (g/L)	Các axit béo trong số chất béo thô (khối lượng/khối lượng%)	
		EPA	DHA
<i>Schizochytrium sp.</i> ATCC20888	49,70	0,86	22,40
<i>Schizochytrium sp.</i> CD01-5000	45,80	2,95	47,00
<i>Schizochytrium sp.</i> CD01-5004	53,00	4,25	42,90

(Trong bảng 4, EPA biểu thị axit eicosapentaenoic, và DHA biểu thị axit docosahexaenoic)

Kết quả, như thể hiện trong bảng 4, các chủng CD01-5000 và CD01-5004 được xác nhận là thể hiện sự sinh trưởng sinh khối tương tự như chủng *Schizochytrium sp.* ATCC20888, mà được nuôi cấy làm nhóm đối chứng, trong khi sản xuất và tích lũy các mức cao của EPA và DHA trong các tế bào.

Ví dụ 4-2. Phân tích các hàm lượng của các protein và các axit amin

Các thử nghiệm nuôi cấy bổ sung được tiến hành trên chủng CD01-5004, mà cho thấy hàm lượng sinh khối và hàm lượng EPA cao nhất, để phân tích các hàm lượng của các protein và các axit amin nội bào.

Cụ thể là, chủng được nuôi cấy trong tổng cộng 63 giờ trong cùng các điều kiện nuôi cấy như được mô tả trong ví dụ 4-1, ngoại trừ việc môi trường GYEP bao gồm 10 g/L dịch xuất nấm men và 10 g/L amoni clorua làm các nguồn nitơ được sử dụng. Sau

khi việc nuôi cấy kết thúc, các tế bào khô được thu từ môi trường nuôi cấy theo cùng cách như được mô tả trong ví dụ 3-3.

Để phân tích các hàm lượng protein, các hàm lượng nitơ có trong mẫu được định lượng bằng cách sử dụng máy phân tích nguyên tố cho 0,5 g đến 1,0 g tế bào khô, một cách tương ứng. Tỷ lệ khối lượng (% TN) của nitơ có mặt trong mỗi mẫu được nhân với 6,25 để tính toán hàm lượng của các protein thô trong mẫu.

Để phân tích hàm lượng axit amin, 0,5 g đến 1 g mỗi nhóm tế bào khô được thủy phân axit, và sau đó sắc ký lỏng được thực hiện cho chúng. Tỷ lệ thành phần (%) của mỗi axit amin được tính toán dưới dạng phần trăm của mỗi axit amin so với tổng nồng độ axit amin trong mẫu.

Bảng 5

Khối lượng của các tế bào khô (g/L)	60,5
Protein thô (%)	74,38
Thành phần axit amin (%)	
Axit aspartic	4,55
Serin	2,97
Glutamat	23,31
Glycin	3,65
Alanin	7,73
Valin	7,35
Methionin	5,03
Isoleucin	3,10
Leucin	3,53
Phenylalanin	20,51
Histidin	11,85
Prolin	6,42

Kết quả là, như được thể hiện trong bảng 5, tổng sản lượng của các tế bào là 60,5 g/L và hàm lượng protein thô trong các tế bào khô được xác nhận là 74,38%. Các axit amin nội bào được cấu thành chủ yếu từ glutamat ở 23,31% và phenylalanin ở 20,51%, được tiếp theo sau bởi histidin, alanin, valin, prolin, methionin, axit aspartic, glycin, leucin, isoleucin, và serin.

Ví dụ 5. Xác nhận tốc độ sinh trưởng của chủng *Schizochytrium sp.* kiểu đại CD01-5000, và chủng *Schizochytrium sp.* đột biến CD01-5004

Các tốc độ sinh trưởng của chủng *Schizochytrium sp.* kiểu đại mới CD01-5000, và đột biến của nó, chủng *Schizochytrium sp.* CD01-5004, được đo và được so sánh.

Cụ thể là, mỗi chủng CD01-5000 và CD01-5004 được cấy vào môi trường GYEP chứa 3% glucoza sao cho thể tích làm việc cuối cùng là 50 mL trong bình 500 mL, và được nuôi cấy trong tủ ủ lắc ở các điều kiện 30°C và 180 rpm. Trong quá trình nuôi cấy, độ hấp thụ được đo dưới dạng giá trị mật độ quang học (OD) ở bước sóng là 680 nm bằng cách sử dụng máy đo quang phổ UV/Visible để đo các mức độ sinh trưởng tế bào ở mỗi giai đoạn.

Kết quả là, như được thể hiện trong Hình 2, biến thể CD01-5004 được xác nhận là thể hiện tốc độ tiêu thụ đường và tốc độ sinh trưởng tế bào bằng hoặc cao hơn so với chủng kiểu đại CD01-5000 và đạt đến pha cấp số nhân nhanh hơn khoảng 5 giờ so với chủng kiểu đại.

Ví dụ 6. Xác nhận các đặc tính sinh trưởng của chủng *Schizochytrium sp.* kiểu đại CD01-5000, và chủng *Schizochytrium sp.* đột biến CD01-5004

Được xác nhận xem việc sinh trưởng là có thể hay không trong khoảng độ pH rộng khi nuôi cấy chủng *Schizochytrium sp.* kiểu đại mới CD01-5000, và đột biến của nó, chủng *Schizochytrium sp.* CD01-5004.

Cụ thể là, các chủng CD01-5000 và CD01-5004 được cấy vào môi trường GYEP có độ pH là 2, 3, 3,5, 4, 6, 8, 8,5, 9 hoặc 9,5 mỗi loại trong bình 500 mL, và được nuôi cấy theo cùng cách như được mô tả trong ví dụ 4, và sau đó độ hấp thụ của mỗi loại ở 0, 24, 40 và 48 giờ sau khi bắt đầu việc nuôi cấy được đo để đánh giá các mức sinh trưởng tế bào.

Bảng 6

Thời gian nuôi cấy (giờ)	0	24	40	48
Độ pH 2	1,29	0,81	0,77	0,74
Độ pH 3	0,31	0,39	3,43	3,94
Độ pH 3,5	0,31	18,60	20,05	20,00
Độ pH 4	1,29	16,08	17,70	19,30
Độ pH 6	1,29	13,52	19,30	15,75
Độ pH 8	1,29	13,78	18,15	16,05
Độ pH 8,5	0,31	14,05	14,55	14,20
Độ pH 9	0,31	4,95	15,35	12,95
Độ pH 9,5	0,31	2,35	0,30	0,64

(Mỗi giá trị là độ hấp thụ của từng thời gian nuôi cấy theo các điều kiện pH)

Kết quả là, như được thể hiện trong bảng 6 và Hình 3, được xác nhận rằng chủng CD01-5004 là có khả năng sinh trưởng trong khoảng rộng của độ pH từ độ pH 3,5 đến độ pH 9, và chủng CD01-5000 cũng thể hiện các đặc tính sinh trưởng tương tự như các đặc tính trên.

Ngoài ra, xét đến thực tế rằng môi trường nuôi cấy thể hiện màu đỏ đậm khi nuôi cấy các chủng CD01-5000 và CD01-5004, các chủng được phát hiện là sản xuất các sắc tố chống oxy hóa thuộc họ caroten, chẳng hạn như β -caroten, lutein, astaxanthin, capsanthin, annatto, canthaxanthin, lycopene, β -apo-8-carotenal, zeaxanthin, β -apo-8-carotenal-este, v.v..

Từ phần mô tả ở trên, người có trình độ trung bình trong lĩnh vực mà sáng chế thuộc về sẽ có thể hiểu rằng sáng chế có thể được thể hiện trong các hình thức cụ thể khác mà không làm thay đổi ý tưởng kỹ thuật hoặc các đặc điểm cơ bản của nó. Do đó, cần hiểu rằng các ví dụ nêu trên không phải là giới hạn, mà chỉ nhằm minh họa ở tất cả các khía cạnh. Phạm vi của sáng chế nên được hiểu là bao gồm tất cả các thay đổi hoặc các sửa đổi xuất phát từ ý nghĩa và phạm vi của các yêu cầu bảo hộ sẽ được mô tả sau đây và các khái niệm tương đương, thay vì phần mô tả chi tiết ở trên.

HIỆP ƯỚC BUDAPEST VỀ
CÔNG NHẬN QUỐC TẾ VỀ VIỆC NỘP LƯU CÁC MẪU VI SINH VẬT
CHO CÁC MỤC ĐÍCH THU TỤC SÁNG CHẾ

MẪU QUỐC TẾ
NHẬN TRONG TRƯỜNG HỢP MẪU NỘP LƯU GÓC

ban hành theo Quy tắc 7.1

TO: CJ CHEIL JEDANG CORPORATION
CJ CHEIL JEDANG CORPORATION
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul
Republic of Korea

I. ĐỊNH DANH VI SINH VẬT	
Tham chiếu định danh được cung cấp bởi NGƯỜI NỘP LƯU: <i>Schizochytrium</i> sp. CD01-5000	Số đăng ký được cấp bởi CƠ QUAN NHẬN NỘP LƯU QUỐC TẾ: KCTC 14344BP
II. MÔ TẢ KHOA HỌC VÀ/HOẶC CHI ĐỊNH PHÂN LOẠI ĐƯỢC ĐỀ XUẤT	
Mẫu vi sinh vật được định danh trong phần I ở trên được kèm theo với: ☐ mô tả khoa học ☐ chi định phân loại được đề xuất (Đánh dấu chéo vào ô có thể áp dụng)	
III. TIẾP NHẬN VÀ CHẤP NHẬN	
Cơ quan nhận nộp lưu quốc tế này chấp nhận mẫu vi sinh vật được xác định theo mục I ở trên, mà cơ quan này đã nhận được vào 26/10/2020.	
IV. NHẬN YÊU CẦU CHUYỂN ĐỔI	
Mẫu vi sinh vật được định danh trong phần I ở trên được tiếp nhận bởi cơ quan nhận nộp lưu quốc tế và yêu cầu chuyển đổi mẫu nộp lưu ban đầu thành mẫu nộp lưu theo hiệp ước Budapest được nhận bởi cơ quan này vào	
V. CƠ QUAN NHẬN NỘP LƯU QUỐC TẾ	
Tên: Korean Collection for Type Cultures Địa chỉ: Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) 181, Ipsin-gil, Jeongseup-si, Jeollabuk-do 56212 Republic of Korea	Chữ ký của người có quyền đại diện cho Cơ quan nhận nộp lưu quốc tế hoặc của quan chức được ủy quyền:  KIM, Song-Gun, Giám đốc Ngày: 26/10/2020

Mẫu BP/4 (KCTC Mẫu 17)

00001 (01/2020)

HIỆP ƯỚC BUDAPEST VỀ
CÔNG NHẬN QUỐC TẾ VỀ VIỆC NỘP LƯU CÁC MẪU VI SINH VẬT
CHO CÁC MỤC ĐÍCH THỦ TỤC SÁNG CHẾ

MẪU QUỐC TẾ
NHẬN TRONG TRƯỜNG HỢP MẪU NỘP LƯU GỐC

ban hành theo Quy tắc 7.1

TỚI: CJ CHEILJEDANG CORPORATION
CJ CHEILJEDANG CORPORATION
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul
Republic of Korea

I. ĐỊNH DANH VI SINH VẬT	
Tham chiếu định danh được cung cấp bởi NGƯỜI NỘP LƯU: <i>Salizocorymbium</i> sp. CD01- 5004	Số đăng ký được cấp bởi CƠ QUAN NHẬN NỘP LƯU QUỐC TẾ: KCTC 14345BP
II. MÔ TẢ KHOA HỌC VÀ/HOẶC CHI ĐỊNH PHÂN LOẠI ĐƯỢC ĐỀ XUẤT	
Mẫu vi sinh vật được định danh trong phần I ở trên được kèm theo với: ☐ mô tả khoa học ☐ chi định phân loại được đề xuất (Đánh dấu chéo vào ô có thể áp dụng)	
III. TIẾP NHẬN VÀ CHẤP NHẬN	
Cơ quan nhận nộp lưu quốc tế này chấp nhận mẫu vi sinh vật được xác định theo mục I ở trên, mà cơ quan này đã nhận được vào 26/10/2020.	
IV. NHẬN YÊU CẦU CHUYỂN ĐỔI	
Mẫu vi sinh vật được định danh trong phần I ở trên được tiếp nhận bởi cơ quan nhận nộp lưu quốc tế và yêu cầu chuyển đổi mẫu nộp lưu ban đầu thành mẫu nộp lưu theo hiệp ước Budapest được nhận bởi cơ quan này vào	
V. CƠ QUAN NHẬN NỘP LƯU QUỐC TẾ	
Tên: Korean Collection for Type Cultures Địa chỉ: Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) 181, Ipsin-gil, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 56212 Republic of Korea	Chữ ký của người có quyền đại diện cho Cơ quan nhận nộp lưu quốc tế hoặc của quan chức được ủy quyền: Sang-Gun Kim KIM, Sang-Gun. Giám đốc Ngày: 26/10/2020

Mẫu BP/4 (KCTC Mẫu 17)

-00017-0001

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* (*Schizochytrium* sp.), được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic (DHA), axit eicosapentaenoic (EPA) trong khoảng từ 1% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng dựa trên tổng khối lượng của axit béo, và axit palmitic (PA).
2. Vi tảo theo điểm 1, trong đó vi tảo sản xuất 35% theo khối lượng đến 60% theo khối lượng axit docosahexaenoic trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo.
3. Vi tảo theo điểm 1, trong đó vi tảo sản xuất 10% theo khối lượng đến 30% theo khối lượng axit palmitic trên cơ sở tổng khối lượng của các axit béo.
4. Vi tảo theo điểm 1, trong đó vi tảo có khả năng sản xuất các carotenoid.
5. Vi tảo theo điểm 4, trong đó các carotenoid là ít nhất một trong số các chất được lựa chọn từ nhóm gồm có β -caroten, lutein, astaxanthin, capsanthin, annatto, canthaxanthin, lycopene, β -apo-8-carotenal, zeaxanthin, và β -apo-8-carotenal-este.
6. Sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, bao gồm: vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* theo điểm 1, các mẻ nuôi cấy của vi tảo, các sản phẩm khô của các mẻ nuôi cấy, hoặc các dạng ly giải của các sản phẩm khô.
7. Chế phẩm thức ăn chăn nuôi, bao gồm sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* theo điểm 6, hoặc các dịch cô hoặc các sản phẩm khô của sinh khối.
8. Phương pháp điều chế sinh khối có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, bao gồm: nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, mà được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic, axit eicosapentaenoic trong khoảng từ 1% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng dựa trên tổng khối lượng của axit béo, và axit palmitic; và thu hồi sinh khối từ vi tảo, các mẻ nuôi cấy của vi tảo, các sản phẩm khô của các mẻ nuôi cấy, hoặc các dạng ly giải của các sản phẩm khô.
9. Phương pháp theo điểm 8, trong đó việc nuôi cấy được thực hiện trong các điều kiện dị dưỡng.
10. Phương pháp theo điểm 8, trong đó việc nuôi cấy được thực hiện bằng việc sử dụng môi trường bao gồm nguồn cacbon và nguồn nitơ.

11. Phương pháp theo điểm 10, trong đó nguồn cacbon là ít nhất một loại được lựa chọn từ nhóm gồm có glucoza, fructoza, maltoza, galactoza, mannoza, sucroza, arabinoza, xyloza, và glyxerol

12. Phương pháp theo điểm 10, trong đó nguồn nitơ là: i) ít nhất một nguồn nitơ hữu cơ được lựa chọn từ nhóm gồm có dịch chiết nấm men, dịch chiết thịt bò, pepton, và trypton, hoặc ii) ít nhất một nguồn nitơ vô cơ được lựa chọn từ nhóm gồm có amoni axetat, amoni nitrat, amoni clorua, amoni sulfat, natri nitrat, ure, và mononatri glutamat (MSG).

13. Phương pháp điều chế dầu sinh học có nguồn gốc từ vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, bao gồm: nuôi cấy vi tảo thuộc chi *Schizochytrium*, mà được nộp bảo lưu với số đăng ký là KCTC14344BP hoặc KCTC14345BP, và có khả năng sản xuất axit docosahexaenoic, axit eicosapentaenoic trong khoảng từ 1% theo khối lượng đến 10% theo khối lượng dựa trên tổng khối lượng của axit béo, và axit palmitic; và thu hồi các lipid từ vi tảo, các mẻ nuôi cấy của vi tảo, các sản phẩm khô của các mẻ nuôi cấy, hoặc các dạng ly giải của các sản phẩm khô.

Thông tin danh mục trình tự:

Phiên bản DTD: V1_3
 Tên tệp: PX067052.xml
 Tên phần mềm: Trình tự WIPO
 Phiên bản phần mềm: 2.1.1
 Ngày sản xuất: 2023-04-18

Thông tin chung:

Đơn hiện tại / Chủ đơn tham chiếu tệp: PX067052
 Đơn ưu tiên sớm nhất / Cơ quan sở hữu trí tuệ: Hàn Quốc
 Đơn ưu tiên sớm nhất / Số đơn: 10-2020-0169850
 Đơn ưu tiên sớm nhất / Ngày nộp đơn: 2020-12-07
 Tên chủ đơn: CJ CheilJedang Corporation
 Tên chủ đơn / Ngôn ngữ: tiếng Anh
 Tên tác giả: CHOI, Jung Woon
 Tên tác giả / Ngôn ngữ: tiếng Anh

Tên sáng chế: VI TẢO THUỘC CHI SCHIZOCHYTRIUM, SINH KHỐI CÓ NGUỒN GỐC TỪ VI TẢO THUỘC CHI SCHIZOCHYTRIUM, VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ CHÚNG (tiếng Anh)

Tổng số lượng trình tự: 3

Các trình tự:

Số trình tự (ID): 1
 Độ dài: 1784
 Loại phân tử: ARN
 Các tính năng Vị trí/Các định tính:

- nguồn, 1..1784
 - > mol_type, rARN
 - > sinh vật, không được xác định

Dư:

atctggttga	tcctgccagt	agtcatatgc	tcgtctcaaa	gattaagcca	tgcatgtgta	60
agtataagcg	attgtactgt	gagactgcga	acggctcatt	atatcagtaa	taattttcttc	120
ggtagtttct	tttatatgga	tacctgcagt	aattctggaa	ataatacatg	ctgtaagagc	180
cctgtatggg	gctgcactta	ttagattgaa	gccgatttta	ttgggtgaatc	atgataattg	240
agcagattga	ctatttggtc	gatgaatcgt	ttgagtttct	gccccatcag	ttgtcgacgg	300
tagtgtattg	gactacggtg	actataacgg	gtgacggaga	gttagggctc	gactccggag	360
agggagcctg	agagacggct	accatatcca	aggatagcag	caggcgcgta	aattaccac	420
tgtggactcc	acgaggtagt	gacgagaaat	atcgatgcga	agcgtgtatg	cgttttgcta	480
tcggaatgag	agcaatgtaa	aaccctcatc	gaggatcaac	tgaggggcaa	gtctggtgcc	540
agcagccgcg	gtaattccag	ctccagaagc	atatgctaaa	gttggtgcag	ttaaaaagct	600
cgtagttgaa	tttctggcat	gggcgaccgg	tgctttccct	gaatggggat	tgattgtctg	660
tgttgccttg	gccatctttt	tcttttcttt	ataggggaga	aatctttcac	tgtaatcaaa	720
gcagagtgtt	ccaagcaggt	cgtatgaccg	gtatgtttat	tatgggatga	taagatagga	780
cttggttgct	attttggttg	tttgcacgcc	tgagtaatgg	ttaataggaa	cagttggggg	840

```

tattcgtatt taggagctag aggtgaaatt cttggatttc cgaaagacga actagagcga 900
aggcattttac caagcatggt ttcattaatc aagaacgaaa gtctggggat cgaagatgat 960
tagataccat cgtagtctag accgtaaacg atgccgactt gcgattgttg ggtgcttttt
1020
tatgggcctc agcagcagca catgagaaat caaagtcttt gggttccggg gggagtatgg
1080
tcgcaaggct gaaacttaaa ggaattgacg gaagggcacc accaggagtg gagcctgcgg
1140
cttaatttga ctcaacacgg gaaaacttac cagggtccaga cataggtagg attgacagat
1200
tgagagctct ttcattgattc tatgggtggt ggtgcatggc cgttcttagt tgggtggagtg
1260
atttgtctgg ttaattccgt taacgaacga gacctcggcc tactaaatag tgcgtggtat
1320
ggcaacatag tacgttttaa cttcttagag ggacatgtcc ggtttacggg caggaagttc
1380
gaggcaataa caggctctgtg atgcccttag atgttctggg ccgcacgcgc gctacactga
1440
tgggttcac cgggtttta tctgttttta tggaattgag tgcttggtcg gaaggcctgg
1500
ctaactcttg gaacgctcat cgtgctgggg ctagattttt gcaattatta atctccaacg
1560
aggaattcct agtaaacgca agtcatcagc ttgcattgaa tacgtccctg ccctttgtac
1620
acaccgcccg tcgcacctac cgattgaacg gtccgatgaa accatgggat gtttctgttt
1680
ggattaatth ttggacagag gcagaactcg ggtgaatctt attgtttaga ggaagggtgaa
1740
gtcgtaacaa ggtttccgta ggtgaacctg cggaaggatc atta
1784

```

Số trình tự (ID): 2

Độ dài: 22

Loại phân tử: ADN

Các tính năng Vị trí/Các định tính:

- nguồn, 1..22

> mol_type, ADN khác

> sinh vật, kết cấu tổng hợp

Dư:

aacctggttg atcctgccag ta

Số trình tự (ID): 3

Độ dài: 25

Loại phân tử: ADN

Các tính năng Vị trí/Các định tính:

- nguồn, 1..25

> mol_type, ADN khác

> sinh vật, kết cấu tổng hợp

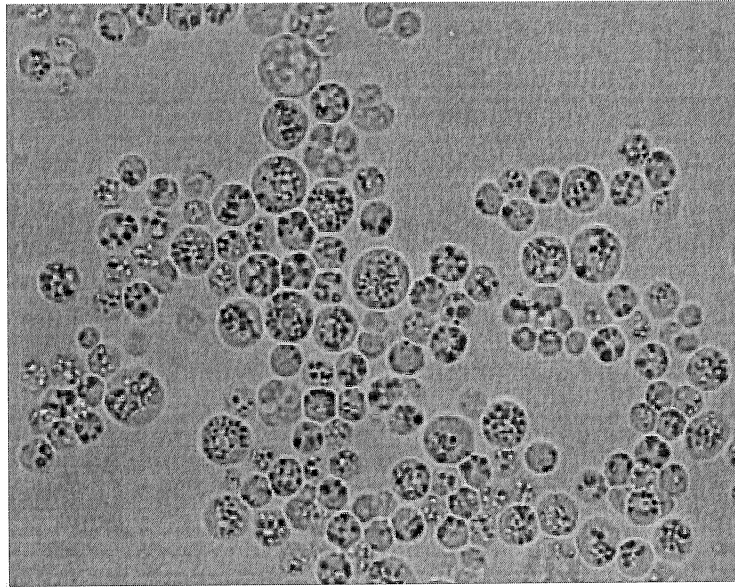
Dư:

ccttggttacg acttcacctt cctct

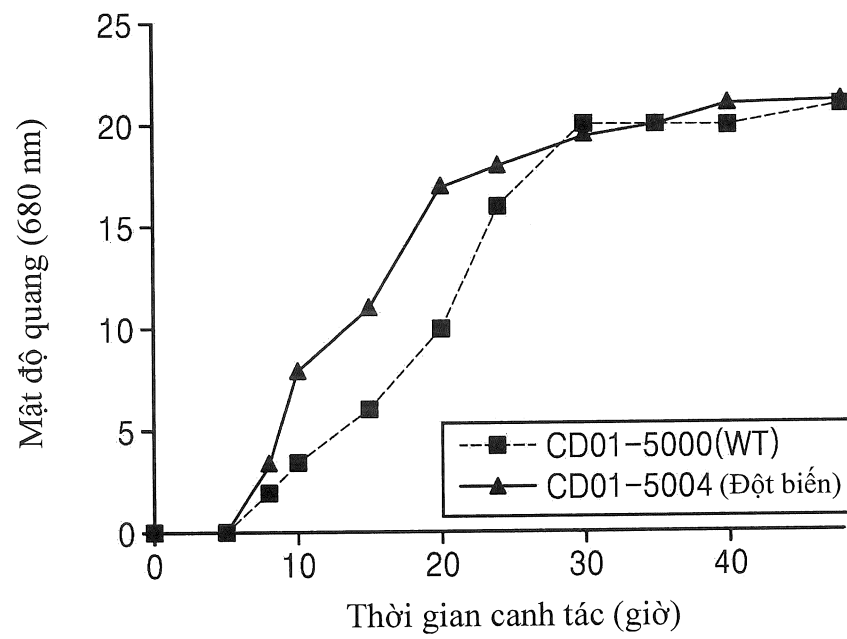
25

KẾT THÚC

HÌNH 1



HÌNH 2



HÌNH 3

