

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014年6月19日(19.06.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/091718 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 1/12 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/007118
- (22) 国際出願日: 2013年12月4日(04.12.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-273633 2012年12月14日(14.12.2012) JP
- (71) 出願人: 株式会社デンソー(DENSO CORPORATION) [JP/JP]; 〒4488661 愛知県刈谷市昭和町1丁目1番地 Aichi (JP). 国立大学法人京都大学(KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 Kyoto (JP). 学校法人中央大学(CHUO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1920393 東京都八王子市東中野7-4-2-1 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 倉田 稔(KURATA, Minoru); 〒4488661 愛知県刈谷市昭和町1丁目1番地株式会社デンソー内 Aichi (JP). 福田 裕章(FUKUDA, Hiroaki); 〒4488661 愛知県刈谷市昭和町1丁目1番地株式会社デンソー内 Aichi (JP). 藏野 憲秀(KUR-

ANO, Norihide); 〒4488661 愛知県刈谷市昭和町1丁目1番地株式会社デンソー内 Aichi (JP). 宮下英明(MIYASHITA, Hideaki); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 原山 重明(HARAYAMA, Shigeaki); 〒1920393 東京都八王子市東中野7-4-2-1学校法人中央大学内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 金 順姫(KIN, Junhi); 〒4600003 愛知県名古屋市中区錦2丁目13番19号 瀧定ビル6階 Aichi (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシ

[続葉有]

(54) Title: CULTURE METHOD AND CULTURE SYSTEM FOR MICROALGAE

(54) 発明の名称: 微細藻類の培養方法及び培養システム

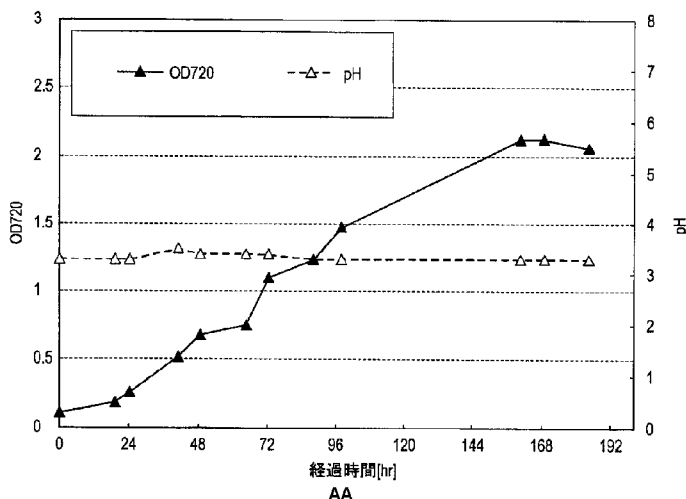


FIG. 1:
AA Time elapsed (hr)

(57) Abstract: A culture method for microalgae that cultures unicellular green microalgae belonging to the genus *Coccomyxa* and groups of organisms closely related thereto, or the *Watanabea* clade, in an open outdoor culture system using broth having a pH of 4 or lower. A culture method for microalgae that cultures microalgae of the genus *Coccomyxa* and groups of organisms closely related thereto, or *Pseudococcomyxa*, in an open outdoor culture system using broth having a pH of 4 or lower containing ammonia nitrogen.

(57) 要約: pHが4以下である培養液を用いて、*Coccomyxa*属およびその近縁生物群、又は *Watanabea* クレードに帰属する単細胞緑藻類の微細藻類を屋外の開放系培養システムにおいて培養する微細藻類の培養方法。pHが4以下であり、アンモニア態窒素を含む培養液を用いて、*Coccomyxa*属およびその近縁生物群属、又は *Pseudococcomyxa*属の微細藻類を屋外の開放系培養システムにおいて培養する微細藻類の培養方法。

WO 2014/091718 A1



ア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ
(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,
NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

明 細 書

発明の名称： 微細藻類の培養方法及び培養システム

関連出願の相互参照

[0001] 本出願は、2012年12月14日に出願された日本特許出願2012-273633に基づいており、ここにその記載内容を参照により援用する。

技術分野

[0002] 本開示は微細藻類の培養方法及び培養システムに関するものである。

背景技術

[0003] 近年、微細藻類が生産する脂質や糖等の有用物質の利用と活用が注目されている。有用物質の生産性を高めるためには、微細藻類を効率よく培養する必要がある。従来、微細藻類の培養方法としては、中性やアルカリ性の培養液を用いる方法が専ら用いられてきた（非特許文献1参照）。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1：AquaFUELS-D1.4 Rev7-30November 2010 Page28-36

発明の概要

[0005] 本開示は以上の点に鑑みなされたものであり、屋外での開放系における微細藻類の培養方法及び培養システムを提供することを目的とする。

[0006] 本開示の第1局面に係る微細藻類の培養方法は、培養液のpHが4以下である培養液を用いて、Coccomyxa属およびその近縁生物群、又はWatanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類の微細藻類を屋外の開放系の培養システムにて培養する。この培養方法によれば、培養液のpHが4以下であるので、他の微細藻類や原生生物の増殖を抑制することができる。培養液中にCO₂を導入しても、重炭酸イオンが生じないので、培養液のpHが変動を抑制することができる。

[0007] 本開示の第2局面に係る微細藻類の培養方法は、培養液のpHが4以下であり、アンモニア態窒素を含む培養液を用いて、Coccomyxa属およびその近縁

生物群、Pseudococcomyxa属の微細藻類を屋外の開放系の培養システムにて培養する。この培養方法によれば、培養液のpHが4以下であるので、他の微細藻類や原生生物の増殖を抑制することができる。特に、培養液がアンモニア態窒素（例えば尿素）を含むことから、他の微細藻類や原生生物の増殖を抑制することができる。培養液中にCO₂を導入しても、重炭酸イオンが生じないので、培養液のpHが変動することを抑制できる。

図面の簡単な説明

- [0008] 本開示についての上記および他の目的、特徴や利点は、添付図面を参照した下記詳細な説明から、より明確になる。添付図面において
- [図1]図1は、実施例1における藻体濃度とpHの推移を表すグラフである。
- [図2]図2は、実施例8における藻体濃度とpHの推移を表すグラフである。
- [図3]図3は、培養システム1の構成を表す説明図である。
- [図4]図4は、培養終了後における藻体中の窒素濃度及び油脂含量を表す図である。
- [図5]図5は、2回目の培養後及び3回目の培養後における藻体中の油脂含量を表す図である。

発明を実施するための形態

- [0009] 培養液が中性又はアルカリ性である場合、培養の対象である微細藻類以外の微細藻類（以下、他の微細藻類とする）や、微細藻類を捕食する原生生物が増殖する可能性がある。微細藻類を培養する場合、培養液中にCO₂を連続的に導入することがあるが、培養液が中性又はアルカリ性であると、CO₂から重炭酸イオンが生じ、培養液のpHが変動する可能性がある。すると、培養液へのpH調整剤の投入が必要となり、培養液中の塩濃度が増加する虞がある。
- [0010] 本開示の実施形態を説明する。本開示の培養方法において培養の対象となる微細藻類としては、Coccomyxa属およびその近縁生物群、Pseudococcomyxa属、又はWatanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類がある。特に、温泉湧出環境等において採取したサンプルから、所定の単離条件（例えば、pH3で

あり、温度が15～35℃の範囲内にある条件)にてスクリーニングされた微細藻類(つまり、上記の単離条件で生育可能な微細藻類)がある。

[0011] 温泉湧出環境等において採取したサンプルから、上記のスクリーニングで選択される微細藻類として、例えば、*Pseudochoricystis ellipsoidea* N1株(MBIC11204 : *Pseudococcomyxa*属近縁)、*Pseudochoricystis ellipsoidea* 0bi株(MBIC11220 : *Pseudococcomyxa*属近縁)、*Coccomyxa simplex* (UTEX274 : *Coccomyxa*属)、*Coccomyxa chodatii* (UTEXB266 : *Coccomyxa*属)がある。

[0012] また、温泉湧出環境等において採取したサンプルから、上記のスクリーニングにより、*Coccomyxa*属およびその近縁生物群、*Pseudococcomyxa*属、又はWatanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類の微細藻類を選択し、それを本開示の培養方法に用いてもよい。なお、微細藻類が*Coccomyxa*属およびその近縁生物群、*Pseudococcomyxa*属、又はWatanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類であることは、DNAの相同性により確認でき、18S rRNAでの同一性が97%以上である。18S rRNAでの同一性は、周知のDNAデータベースを使用して確認される。

[0013] 本開示の培養方法における培養液としては、周知の組成を有する培養液を用いることができる。培養液のpHは4以下であり、好ましくはpH3～4である。本開示の培養方法において、例えば、培養液にCO₂(CO₂含有ガス)を連続的に導入することができる。この場合、微細藻類の培養速度が高水準に維持される。なお、培養液のpHが4以下であることにより、CO₂を導入しても重炭酸は生じにくく、培養液のpHは変動しにくい。

[0014] 本開示の培養方法において、培養液中にアンモニア態窒素を含むことができる。この場合、他の微細藻類や原生生物の増殖が一層生じにくくなる。アンモニア態窒素は特に限定されないが、例えば尿素である。

[0015] 本開示の培養方法では、例えば、微細藻類の培養に用いた培養液から微細藻類の全部又は一部を回収し、回収後の培養液を用い、例えば、不足分の培地成分を追加することで新たな微細藻類を培養することができる。この場合、培養液を再利用できるので、微細藻類の培養コストを低減することができる。

る。

[0016] 本開示の培養方法は、例えば、培養液における、pH、CO₂濃度、及び藻体濃度から成るパラメータ群から選ばれる1以上のパラメータを検知する検知手段と、そのパラメータを所定の範囲内に制御する制御手段を備える培養システムを用いる。この培養システムを用いれば、前記パラメータを適切な範囲に維持することが容易になる。なお、検知手段は検知部に相当する。制御手段は制御部に相当する。

[0017] 前記パラメータにpHが含まれる場合、培養システムは、検知手段によってpHを検知し、制御手段によってpHを4以下（好ましくはpH3~4）の範囲に維持する。また、前記パラメータにCO₂濃度が含まれる場合、培養システムは、検知手段によってCO₂濃度を検知し、制御手段によってCO₂濃度を、所定の範囲に維持する。所定の範囲は、例えば、7.45~74.5 mg/Lである。

[0018] 検知手段としては、例えば、前記パラメータを測定可能なセンサ（例えばpH測定センサ、CO₂濃度測定センサ、藻体濃度測定センサ）がある。また、制御手段としては、例えば、前記パラメータを調整する調整手段（例えば、培養液へのpH調整剤の導入量を調整するバルブ機構、培養液へのCO₂含有ガスの導入量を調整するバルブ機構、培養液への微細藻類の導入量を調整するバルブ機構）と、上記のセンサの測定結果に応じて上記の調整手段を制御するコンピュータと、から成るものがある。

（実施例1）

屋外の開放系培養システム（500L）に、以下の組成を有する培養液を収容した。

[0019] イオン交換水：500kg
アンモニア態窒素（尿素）：9.8g
リン：560mg
カリウム：560mg
カルシウム：150mg

マグネシウム：170mg

キレート金属塩：85mg

培養液のpHは微細藻類の植株前に塩酸を用いて3.5に調整し、その後は調整しなかった。この培養液に、*Pseudococcomyxa*属近縁の微細藻類である*Pseudochoricystis ellipsoidea* N1株(MBIC11204)を、0.02g/lとなるように植株した。

[0020] 培養中は、光源に太陽による日射を用い、二酸化炭素濃度1vol%のガスを連続的に培養液に通気させた。培養中、培養液における藻体濃度とpHとを継続的に測定した。その測定結果を図1に示す。図1においてOD720は培養液中の藻体濃度を示し、pHは培養液のpHを示す。また、培養終了後における藻体中の窒素濃度及び油脂含量を測定した。その結果を図4に示す。

[0021] 図1及び図4から明らかなように、培養中、培養液のpHはほとんど変動せず、微細藻類の生育は良好であった。また、他の微細藻類や原生生物の増殖は見られなかった。

(実施例2)

微細藻類として、*Pseudococcomyxa*属近縁の微細藻類である*Pseudochoricystis ellipsoidea* N1株(MBIC11204)の代わりに、*Pseudococcomyxa*属近縁の微細藻類である*Pseudochoricystis ellipsoidea* 0bi株(MBIC11220)を用いて、前記実施例1と同様に培養を行った。

[0022] 培養終了後における藻体中の窒素濃度及び油脂含量を測定した。その結果を図4に示す。図4で示されるように、微細藻類の生育は良好であった。また、培養中、培養液のpHはほとんど変動せず、他の微細藻類や原生生物の増殖は見られなかった。

(実施例3)

微細藻類として、*Pseudochoricystis ellipsoidea* N1株(MBIC11204)の代わりに、*Coccomyxa simplex* (UTEX274)を用いて、前記実施例1と同様に培養を行った。

培養終了後における藻体中の窒素濃度を測定した。その結果を図4に示す。図4で示されるように、微細藻類の生育は良好であった。また、培養中、培養液のpHはほとんど変動せず、他の微細藻類や原生生物の増殖は見られなかった。

(実施例4)

微細藻類として、*Pseudochoricystis ellipsoidea* N1株(MBIC11204)の代わりに、*Coccomyxa chodatii* (UTEXB266)を用いて、前記実施例1と同様に培養を行った。

[0023] 培養終了後における藻体中の窒素濃度及び油脂含量を測定したところ、微細藻類の生育が良好であることを裏付けていた。また、培養中、培養液のpHはほとんど変動せず、他の微細藻類や原生生物の増殖は見られなかった。

(実施例5)

屋外の開放系培養システム(500L)に、以下の組成を有する培養液を収容した。

[0024] イオン交換水：500kg
硝酸形態窒素(硝酸ナトリウム)：27.3g
リン：560mg
カリウム：560mg
カルシウム：150mg
マグネシウム：170g
キレート金属塩：85mg

培養液のpHは微細藻類の植株前に塩酸を用いて3に調整し、その後は調整しなかった。この培養液に、*Watanabea*クレードに帰属する単細胞緑藻類を、0.02g/lとなるように植株した。この微細藻類は、温泉湧出環境等において採取したサンプルから、pHが3であり、温度が15~35℃の範囲内にある条件にてスクリーニングされた微細藻類である。この微細藻類が*Watanabea*クレードに帰属する単細胞緑藻類であることはDNAの相同性により確認した。この微細藻類のDNA配列を、配列表の配列番号4~6に示す

。

[0025] 培養中は、光源に太陽による日射を用い、二酸化炭素濃度 1 v o l % のガスを連続的に通気させた。培養中、培養液の p H はほとんど変動せず、微細藻類の生育は良好であった。また、他の微細藻類や原生生物の増殖は見られなかった。

(実施例 6)

前記実施例 1 と同じ微細藻類を用い、前記実施例 1 と同様に培養を行った。これを 1 回目の培養とする。1 回目の培養後の培養液から、微細藻類を回収し、回収後の培養液（微細藻類を実質的に含まない培養液）において、新たな微細藻類（前記実施例 1 と同じ微細藻類）を、前記実施例 1 と同様の方法で培養した。これを 2 回目の培養とする。培養液の培地組成に関しては、前記実施例 1 と同量添加した。

[0026] 次に、2 回目の培養後の培養液から、微細藻類を回収し、回収後の培養液（微細藻類を実質的に含まない培養液）において、新たな微細藻類（前記実施例 1 と同じ微細藻類）を、前記実施例 1 と同様の方法で培養した。これを 3 回目の培養とする。培養液の培地組成に関しては、前記実施例 1 と同量添加した。

[0027] 1 回目の培養後における藻体濃度 (O D 7 2 0) 、 1 回目の培養後における p H 、 2 回目の培養後における藻体濃度 (O D 7 2 0) 、 2 回目の培養後における p H 、 3 回目の培養後における藻体濃度 (O D 7 2 0) 、 及び 3 回目の培養後における p H を図 2 に示す。また、2 回目の培養後及び 3 回目の培養後における藻体中の油脂含量を図 5 に示す。なお、図 2 において、n 回目 (n = 1 、 2 、 3) の培養後における藻体濃度は、n 回目__ O D と表記し、n 回目の培養後における p H は、n 回目__ p H と表記する。

[0028] 図 2 及び図 5 に示されるように、1 ~ 3 回目の培養のいずれにおいても、微細藻類の生育は良好であり、p H は殆ど変動しなかった。

(実施例 7)

温泉より採取したいろいろな微生物が混ざったものを用いて、実施例 5 と

同様な方法で培養すると、Coccomyxa属およびその近縁生物群、Pseudococcomyxa属、又はWatanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類の微細藻類のみに増殖が見られた。Coccomyxa属およびその近縁生物群、Pseudococcomyxa属の微細藻類のDNA配列を、配列表の配列番号1～3に示す。Watanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類の微細藻類のDNA配列を、配列表の配列番号4～6に示す。

(実施例8)

温泉より採取したいろいろな微生物が混ざったものを用いて、実施例1と同様な方法で培養すると、Coccomyxa属およびその近縁生物群、Pseudococcomyxa属の微細藻類のみに増殖が見られた。Coccomyxa属およびその近縁生物群、Pseudococcomyxa属の微細藻類のDNA配列を、配列表の配列番号1～3に示す。

(実施例9)

図3に、培養システム1の構成を表す。培養システム1は、レースウェイ型の培養槽3と、培養槽3中の培養液を攪拌する攪拌用パドル5と、培養液のpHを検知するpH測定センサ7と、培養液中のCO₂濃度を検知するCO₂濃度測定センサ9と、周知のコンピュータから成る制御部11と、培養液へのpH調整剤の投入を行うpH調整剤投入部13と、培養液へのCO₂含有ガスの導入を行うCO₂ガス導入部15と、を備える。

[0029] pH調整剤投入部13は周知のバルブ機構を有しており、培養液へのpH調整剤の投入量を調整できる。また、CO₂ガス導入部15は周知のバルブ機構を有しており、培養液へのCO₂含有ガスの導入量を調整できる。

[0030] 制御部11は、pH測定センサ7の測定結果を取得し、培養液中のpHが3～4の範囲に維持されるように、pH調整剤投入部13を制御し、必要に応じてpH調整剤を培養液に投入する。

[0031] 制御部11は、CO₂濃度測定センサ9の測定結果を取得し、培養液中のCO₂濃度が7.45～74.5mg/Lの範囲に維持されるように、CO₂ガス導入部15を制御し、培養液中へのCO₂含有ガスの導入量を調整する。な

お、pH測定センサ7及びCO₂濃度測定センサ9は検知手段の一実施形態であり、制御部11、pH調整剤投入部13、及びCO₂ガス導入部15は制御手段の一実施形態である。

[0032] 本実施例の培養システム1は、前記実施例1～6における微細藻類の培養に用いることができる。本実施例の培養システム1を用いれば、培養液のpH及びCO₂濃度を好適な範囲に維持することが容易になる。

[0033] 培養システム1は、培養液中の藻体濃度を測定するセンサと、そのセンサの測定結果に応じて藻体濃度を所定の範囲に調整する手段を備えていてもよい。この場合、制御部11は、藻体濃度の測定結果に応じて藻体濃度を調整することで、藻体濃度を好ましい範囲に維持することができる。

[0034] 本開示の第1局面に係る微細藻類の培養方法は、培養液のpHが4以下である培養液を用いて、Coccomyxa属およびその近縁生物群、又はWatanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類の微細藻類を屋外の開放系の培養システムにて培養する。この培養方法によれば、培養液のpHが4以下であるので、他の微細藻類や原生生物の増殖を抑制することができる。培養液中にCO₂を導入しても、重炭酸イオンが生じないので、培養液のpHが変動を抑制することができる。

[0035] 本開示の第2局面に係る微細藻類の培養方法は、培養液のpHが4以下であり、アンモニア態窒素を含む培養液を用いて、Coccomyxa属およびその近縁生物群、Pseudococcomyxa属の微細藻類を屋外の開放系の培養システムにて培養する。この培養方法によれば、培養液のpHが4以下であるので、他の微細藻類や原生生物の増殖を抑制することができる。特に、培養液がアンモニア態窒素（例えば尿素）を含むことから、他の微細藻類や原生生物の増殖を抑制することができる。培養液中にCO₂を導入しても、重炭酸イオンが生じないので、培養液のpHが変動を抑制することができる。

[0036] 尚、本開示は前記実施形態になんら限定されるものではなく、本開示を逸脱しない範囲において種々の態様で実施しうることはいうまでもない。例えば、前記実施例1～4、6、8において、尿素の代わりに、他のアンモニア

態窒素を用いても略同様の効果を得ることができる。

[0037] 以上、本開示に係る微細藻類の培養方法および培養システムを例示したが、本開示に係る実施の形態および構成は、上述した各実施の形態および各構成に限定されるものではない。異なる実施の形態および構成にそれぞれ開示された技術的要素を適宜組み合わせ得られる実施の形態および構成についても本開示に係る実施の形態および構成の範囲に含まれる。

配列番号：1

配列の長さ：1677

配列の型：DNA

生物名：Coccomyxa and its allied species, A

配列：1

```
agtcatatgc ttgtctcaaa gattaagcca tgcattgtcta agtataaaact gctttataact
gtgaaactgc gaatggctca ttaaatacagt tatagtttat ttgatggtag cttactactc
ggataaccgt agtaattcta gagctaatac gtgcgtaaat cccgacttct ggaagggacg
tatttattag ataaaaggcc gaccggactc tgtccgactc gcggtgaatc atgataactc
cacggatcgc atggcctcga gccggcgacg ttctattcaa atttctgccc tatcaacttt
cgacggtaag gtattggctt accgtgggtg taacgggtga cggaggatta gggttcgatt
ccggagaggg agcctgagaa acggctacca catccaagga aggcagcagg cgcgcaaatt
accaatcctt gacacaagga ggtagtgaca ataaataaca ataccggggt ttttcaactc
tggttaattgg aatgagtaca atctaaacct cttaacgagg atcaattgga gggcaagtct
gggtgccagca gccgcggtaa ttccagctcc aatagcgtat atttaagttg ttgcagttaa
aaagctcgtg gttggatttc gggcgggctc ggctgggtccg cctatcggtg tgcactgacc
gagcccgtct tgttgccggg gacgggctcc tgggcttaac tgtccgggac tccgagtcgg
cgaggttact ttgagtaaat tagagtgttc aaagcaggcc tacgctctga atacattagc
atggaataac acgataggac tctggcctat cttgttggtc tgtgggaccg gagtaatgat
taagagggac agtcgggggc attcgtatct cattgtcaga ggtgaaattc ttggatttat
gaaagacgaa ctactgcgaa agcatttgcc aaggatgttt tcattaatca agaacgaaag
```

ttgggggctc gaagacgatt agataccgct ctagtctcaa ccataaacga tgccgactag
ggattggcgg gcgttctttt gatgacctcg ccagcacctt atgagaaatc aaagtttttg
ggttccgggg ggagtatggt cgcaaggctg aaacttaaag gaattgacgg aagggcacca
ccaggcgtgg agcctgcggc ttaatttgac tcaacacggg aaaacttacc aggtccagac
atagtgagga ttgacagatt gagagctctt tcttgattct atgggtggtg gtgcatggcc
gttcttagtt ggtgggttgc cttgtcagg t gattccggt aacgaacgag acctcagcct
gctaactagt cacggttggg tttaccagcc ggccgacttc ttagagggac tattggcgac
tagccaatgg aagtgtgagg caataacagg tctgtgatgc ccttagatgt tctgggccgc
acgcgcgcta cactgatgca atcaacgagc ctagccttgg ccgagaggtc cgggtaatct
ttgaaactgc atcgtgatgg ggatagatta ttgcaattat taatcttcaa cgaggaatgc
ctagtaagcg cgagtcatca gctcgcgttg attacgtccc tgcccittgt acacaccgcc
cgtcgctcct accgattggg tgtgctggtg aagcgttcgg attggcggct tcagggc

配列番号 : 2

配列の長さ : 1709

配列の型 : DNA

生物名 : Coccomyxa and its allied species, B

配列 : 2

agtcatatgc ttgtctcaaa gattaagcca tgcattgcta agtataaact gctttatact
gtgaaactgc gaatggctca ttaaatacgt tatagtttat ttgatggtag cttactactc
ggataaccgt agtaattcta gagctaatac gtgcggaaat cccgacttct ggaagggacg
tatttattag ataaaaggcc gaccgggctt gcccgaaacg cggatgaatca tgataactcc
acgaatcgca tggcctcagc gccggcgatg tttcattcaa atttctgccc tatcaacttt
cgacggtaag gtattggctt accgtggtgg taacgggtga cggaggatta gggttcgatt
ccggagaggg agcctgagaa acggctacca catccaagga aggcagcagg cgcgcaaatt
acccaatctt gacacaagga ggtagtgaca ataaataaca ataccggggt ttttcaactc
tggttaattgg aatgagtaca atctaaacct cttaacgagg atcaattgga gggcaagtct
gggtccagca gccgcggtaa ttccagctcc aatagcgtat atttaagttg ttgcagttaa

aaagctcgta gttggatttc gggcgggccc ggccgggccg cctttgggtg tgcactgacc
gggcccgtct tgttgccggg gacgggctcc tgggctaac tgtccgggac tcggagtcgg
cgaggttact ttgagtaaat tagagtgttc aaagcaggcc tacgctctga atacattagc
atggaataac acgataggac tctggcctat cttgttggtc tgtgggaccg gagtaatgat
taagagggac agtcgggggc attcgtatit cattgtcaga ggtgaaattc ttggatttat
gaaagacgaa ctactgcgaa agcatttgcc aaggatgttt tcattaatca agaacgaaag
ttgggggctc gaagacgatt agataccgtc ctagtctcaa ccataaacga tgccgactag
ggattggcgg gcgttctttt gatgaccccg ccagcacctt atgagaaatc aaagtttttg
ggttccgggg ggagtatggt cgcaaggctg aaacttaaag gaattgacgg aagggcacca
ccaggcgtgg agcctgcggc ttaatttgac tcaacacggg aaaacttacc aggtccagac
atagtgagga ttgacagatt gagagctctt tcttgattct atgggtggtg gtgcatggcc
gttcttagtt ggtgggttgc cttgtcagg t gattccggt aacgaacgag acctcagcct
gctaactagt cacgattggt tcttccagtc ggccgacttc ttagagggac tattggcgac
tagccaatgg aagtgtgagg caataacagg tctgtgatgc ccttagatgt tctgggccgc
acgcgcgcta cactgatgca atcaacgagc ctagccttgg ccgacaggtc cgggtaatct
ttgaaactgc atcgtgatgg ggatagatga ttgcaattat tcatcttcaa cgaggaatgc
ctagtaagcg cgagtcatca gctcgcgttg attacgtccc tgccctttgt acacaccgcc
cgtcgctcct accgattggg tgtgctgggt aagcgttcgg attggcggca gtgcgcggtt
cgccgctcgc tgcagccgag aagttcgtt

配列番号 : 3

配列の長さ : 1 7 1 4

配列の型 : D N A

生物名 : Coccomyxa and its allied species, C

配列 : 3

agtcatatgc ttgtctcaaa gattaagcca tgcattgcta agtataaact gctttatact
gtgaaactgc gaatggctca ttaaatacgt tatagtttat ttgatggtac ctactactc
ggataaccgt agtaattcta gagctaatac gtgcggaaat cccgacttct ggaagggacg

tatttattag ataaaaggcc gaccgggctt gcccgaaacg cggatgaatca tgataactcc
acgaatcgca tggcctcagt gccggcgatg tttcattcaa atttctgccc tatcaacttt
cgacggtaag gtattggctt accgtgggtg taacgggtga cggaggatta gggttcgatt
ccggagaggg agcctgagaa acggctacca catccaagga aggcagcagg cgcgcaaatt
accaatcctt gacacaagga ggtagtgaca ataaataaca ataccggggt ttttcaactc
tggtaatgg aatgagtaca atctaaacct cttaacgagg atcaattgga gggcaagtct
gggtccagca gccgcggtaa ttccagctcc aatagcgtat atttaagttg ttgcagttaa
aaagctcgta gttggatttc gggcgggccc ggccgggtccg ccttctgggtg tgcactgacc
gggcccgtct tgttgccggg gacgggctcc tgggctaac tgtccgggac tcggagtcgg
cgaggttact ttgagtaaat tagagtgttc aaagcaggcc tacgctctga atacattagc
atggaataac acgataggac tctggcctat cttgttggtc tgtgggaccg gagtaatgat
taagagggac agtcgggggc attcgtatit cattgtcaga ggtgaaattc ttggatttat
gaaagacgaa ctactgcgaa agcatttgcc aaggatgttt tcattaatca agaacgaaag
ttgggggctc gaagacgatt agataccgtc ctagtctcaa ccataaacga tgccgactag
ggattggcgg gcgttctttt gatgaccccg ccagcacctt atgagaaatc aaagtttttg
ggttccgggg ggagtatggt cgcaaggctg aaacttaaag gaattgacgg aagggcacca
ccaggcgtgg agcctgcggc ttaatttgac tcaacacggg aaaacttacc aggtccagac
atagttagga ttgacagatt gagagctctt tcttgattct atgggtgggtg gtgcatggcc
gttcttagtt ggtgggttgc cttgtcagggt tgattccggt aacgaacgag acctcagcct
gctaactagt cacgattggt tcttccagtc ggccgacttc ttagagggac tattggcgac
tagccaatgg aagtgtgagg caataacagg tctgtgatgc ccttagatgt tctgggccgc
acgcgcgcta cactgatgca atcaacgagc ctagccttgg ccgacaggtc cgggtaatct
ttgaaactgc atcgtgatgg ggatagatga ttgcaattat tcatcttcaa cgaggaatgc
ctagtaagcg cgagtcatca gctcgcgttg attacgtccc tgccctttgt acacaccgcc
cgtcgcctct accgattggg tgtgctgggt aagcgttcgg attggcggca gtgcgcggtt
cgccgctcgc tgcagccgag aagttcgta aacc

配列番号 : 4

配列の長さ : 1 7 5 3

配列の型 : D N A

生物名 : Watanabea

clade and its allied species, D

配列 : 4

```
gtcctgccag tagtcatatg cttgtctcaa agattaagcc atgcatgtcc aagtatgaac
tgcttataact gtgaaactgc gaatggctca ttaaatacagt tatagtttat ttgatggtac
ctggctactc ggatacccgt agtaattcta gagctaatac gtgcgcacat cccgactctg
tggaagggac gtatttatta gataaaaggc cgaccgggct tgcccgactc gcggcgaatc
atgataactc cacgaatcgc acggcctccg cgccggcgat gtttcattca aatttctgcc
ctatcaactt tcgatggtag gatagaggcc taccatggtt ttgacgggtg acggggaatt
agggttctat gccggagagg gagcctgaga aacggctacc acatccaagg aaggcagcag
gcgcgcaaat tacccaatcc cgacacgggg aggtagtgac aataaataac aataccgggc
tcttacgagt ctggtgattg gaatgagaac aatctaaatc ccttaacgag gatcgattgg
agggcaagtc tggtgccagc agccgcggta attccagctc caatagcgta tatttaagtt
gttgcagtta aaaagctcgt agtcggatgt cgggcggcct ccgtcggctc gccgatcggc
gtgcaccggc ggggcgccgc ctgcctgccg gggacgggcg cctgggcttc actgtcccgg
gccccggagt cggcgaggtc actttgagta aattagagtg ttcaaagcag gcagccgctc
tgaatacgcc agcatggaat gacgcgatag gactctgggc ctattccgtc ggtctgtggg
accggagtaa tgatgaacag ggacggctcg gggcattcgt atttcgctgt cagaggtgaa
attcttggat ttgcgaaaga cggacttctg cgaaagcatt tgccaaggat gttttcattg
atcaagaacg aaagtcgggg gctcgaagac gattagatac cgtcctagtc tcgaccataa
acgatgccga ctagggatcg gcgggcgttt cttcgacgac cccgccggca cctcacgaga
aatcaaagtg ttcgggttcc ggggggagta tggtcgcaag gctgaaactt aaaggaattg
acggaagggc accaccaggc gtggagcctg cggcttaatt tgactcaaca cgggaaaact
taccaggtcc agacatagcg aggattgaca gattgacagc tctttcttga ttctatgggt
ggtggtgcat ggccgttctt agttgggtggg ttgccttgtc aggttgattc cggtaacgaa
cgagacctcg gcctgctaaa tagccccggg cggcgttcgc gccggccggc cgagcttctt
```


agagggactc tcggcgacta gccgatggaa gtgcgaggca ataacaggtc tgtgatgccc
ttagatgttc tgggccgcac gcgcgctaca ctgacgcagc caacggggcgc agccttggcc
gagagggccc ggtaatccgg cagcctgcgt cgtgacgggg ctagactctt gcaattatca
gtcttcaacg aggaatgcct agtaggcgcg agtcatcagc tcgcgtcgat tacgtccctg
ccctttgtac acaccgcccg tcgctcctac cgattggatg tgctggtgaa gcgctcggac
cggccgcgctc gcgcggttcg ccgcgcctcg cagccgggaa gtccgittgaa ccctcccacc
taggggaagg aga

配列番号 : 5

配列の長さ : 1 7 6 4

配列の型 : D N A

生物名 : Watanabea

clade and its allied species, E

配列 : 5

tttatcctgc cagtagtcat atgcttgtct caaagactaa gccatgcatg tgtaagtatg
aatcgctcat acggtgaaac tgcgaatggc tcattaaatc agttatcggt tatttgatgg
tactgcccta ctcggataac cgttggaaat cattggctaa tacgtgcgca catccccgact
ctcggaaagg acgtatttat tagatagaag accgaccggg cctcggcccc agctgcggtg
aatcatgata acttcacgaa tcgcatggcc ccgcgccggc gatgtttcat tcaaatttct
gccctatcaa ctttcgatgg taggatagag gcctaccatg gttttgacgg gtgacggagt
tttcgggaac ggctccggag aggccgcctg aggaacagcg accatttcca aggaaagcag
caggcgcgca aattacccaa tcccgcacag gggaggtagt gacaataaat aacaataccg
ggctttttca agtctggtga ttggaatgag tacaatctaa atcccittaac gaggatcaat
tggagggcaa gtctggtgcc agcagccgcg gtaattccag ctccaatagc gtatatttaa
gttgttgacg ttaaaaagct cgtagttaga tctagacgag gccccgccgg tccgccgtca
gggtgtgact ggcgtgggccc cgccttgctg tcggggacgg gctcctgggc ttcgctgtcc
gggaccgga gtcgacgagg ttactttgag taaattagag tgttcaaagc aggcctacgc
tctgaatacg ttagcatgga ataacacgat aggactctgg cctatcctgt tggctctgtg

gaccggagta atgattaaga gggacggtcg ggggcattcg tatttcggtg tcagaggtga
aattcttggga ttttacaaaa agacggactt ctgcgaaaagc atttgccaag gatgttttca
ttaatcaaga acgaaatttg gggggctcga gacgattaga taccgtccta gtctcaaccc
ataaacgatg ccgactaggg atcggcgggt gttgaatcga tgacccccgcc ggcacctcac
gagaaatcaa agtctttggg ttccgggggg agtatggttg caaggctgaa acttaaagga
attgacggaa gggcaccacc aggcgtggag cctgcggctt aatttgactc aacacgggaa
aacttaccag gtccagacat agtgaggatt gacagattga cagctctttc ttgattctgt
gggtggtggt gcatggccgt tcttagttgg tgggttgccct tgtctgccta atcgcgataa
acggacgaga ccccggcctg ctaaatagcc acggtcggcg tcccggccgc cggcgggctt
cttagagggga ctatcggcat ttagccggag gaagtgcggg gcaataacag gtctgtgatg
cccttagatg ttctgggcgg cacgcgcgct aactggtgc gatcagcgag cctagcctcg
gccgagaggt ccgggtaatc ttgcaaaccg caccgtgatg gggctagact cttgcaatta
tcagtcttca acgaggaatg cctagtaagc gcgagtcac agctcgtgct gattacgtcc
ctgccctttg tacacaccgc ccgtcgtcc taccgattgg atgtgctggt gaagcgttcg
gactggcggc gcgggcggct cgttcgccctg gcgccgccgg gaagttcgtt gaacctccc
acctaaagga aggagaagtc gtaa

配列番号 : 6

配列の長さ : 2205

配列の型 : DNA

生物名 : Watanabea

clade and its allied species, F

配列 : 6

gtcatatgct gtctcaaaga ttaagccatg catgtccaag tatgaactgc ttatactgtg
aaactgcgaa tggctcatta aatcagttat agtttatttg atggtacctg gctactcgga
taccgtagt aattctagag ctaatacgtg cgcacatccc gactctgtgg aagggacgta
tttattagat aaaaggccga ccgggcttgc ccgactcgcg gcgaatcatg ataactccac
gaatcgcacg gcctccgcgc cggcgatggt tcattcaaata ttctgcccta tcaactttcg

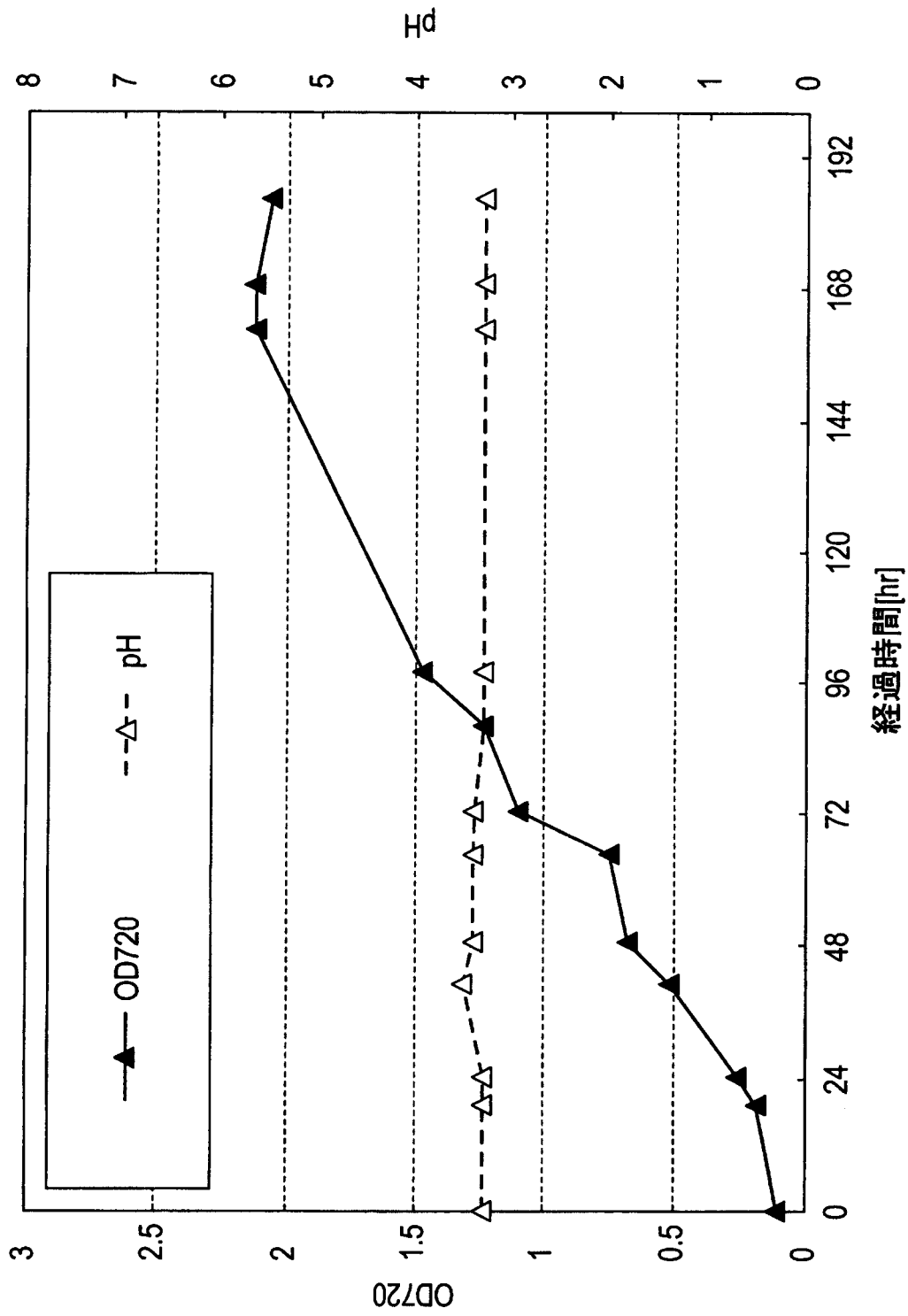
atggtaggat agaggcctac catggttttg acgggtgacg ggaattagg gttctatgcc
ggagagggag cctgagaaac ggctaccaca tccaaggaag gcagcaggcg cgcaaattac
ccaatcccga cacggggagg tagtgacaat aaataacaat accgggctct tacgagtctg
gtgattggaa tgagaacaat ctaaaccct taacgaggat cgattggagg gcaagtctgg
tgccagcagc cgcggtaatt ccagctccaa tagcgtatat ttaagttgtt gcagttaaaa
agctcgtagt cggatgtcgg gcggcctccg tcggtccgcc gatcggcgtg caccggcggg
gcgcccctc gctgccgggg acgggcgctt gggcttcaact gtcccgggcc ccggagtcgg
cgaggctact ttgagtaaat tagagtgttc aaagcaggca gccgctctga atacgccagc
atggaatgac gcgataggac tctggcctat tccgtcggtc tgtgggaccg gagtaatgat
gaacagggac ggtcgggggc attcgtatit cgctgtcaga ggtgaaattc ttggatttgc
gaaagacgga cttctgcgaa agcatttgc aaggatgitt tcattgatca agaacgaaag
tcgggggctc gaagacgatt agataccgtc ctagtctcga ccataaacga tgccgactag
ggatcggcgg gcgtttcttc gacgaccccg ccggcacctc acgagaaatc aaagtgttcg
ggttccgggg ggagtatggt cgcaaggctg aaacttaaag gaattgacgg aagggcacca
ccaggcgitt gaccggctct ggcgctcag agtggcggcc gcgaggccgc cgctagtggc
cccgccctcg ggcgggaccg cgacactgtc aaattgcggg gacctcctaa agcttcgggt
gccaagccca gcccggaaac gggcgggtgg ccggggagag agccccggg tacggcgaca
agcccggaga tgcgacaatg gacgacccgc agccaagtcc tgaggggccc cgcacgccgg
cgcccacgga tgcagttcac agactaaatg gcagtgggcc cgtcgcctgc ggggtgaacc
ggtcgatggc ggtctgcgtc atccgactga tccgccggcg acgcggctta agatatagtc
ggccctcagc cgagaggctg acccgtcggg ggaaggctgc cctgagcggc gcctgagagc
cgggcgggag ggccctcccc acgcgaggag ggccccggac cagcgggagc ctgcggctta
atttgactca acacgggaaa acttaccagg tccagacata gcgaggattg acagattgac
agctctttct tgattctatg ggtggtggtg catggccgtt cttagttggt gggttgcctt
gtcaggttga ttccggtaac gaacgagacc tcggcctgct aaatagcccc gggcggcgtt
cgcgccggcc ggccgagctt cttagaggga ctctcggcga ctagccgatg gaagtgcgag
gcaataacag gtctgtgatg cccttagatg ttctgggccg cacgcgcgct aactgacgc
agccaacggg cgcagccttg gccgagaggc ccgggtaatc cggcagcctg cgtcgtgacg

gggctagact cttgcaatta tcagtctttc aacgaggaat gcctagtagg cgcgagtcac
cagctcgcgt cgattacgtc cctgcccttt gtacacaccg cccgtcgctc ctaccgattg
gatgtgctgg tgaagcgtc ggaccggccg cgtcgcgcgg ttcgccgcgc ctcgcagccg
ggaagtcctg tgaaccctcc cacctagggg aaggagaagt cgtaa

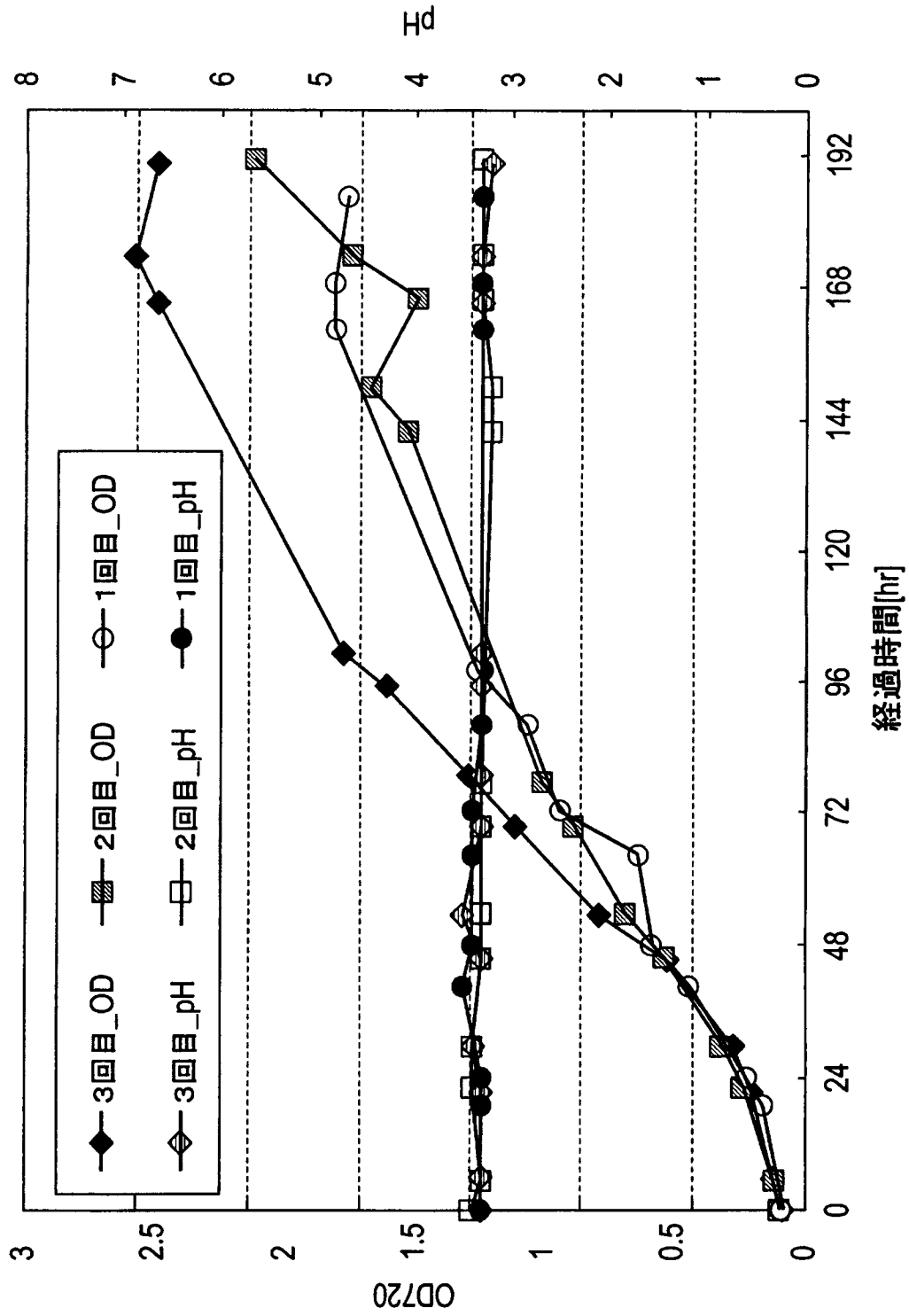
請求の範囲

- [請求項1] pHが4以下である培養液を用いて、Coccomyxa属およびその近縁生物群、又はWatanabeaクレードに帰属する単細胞緑藻類の微細藻類を屋外の開放系培養システムにおいて培養する微細藻類の培養方法。
- [請求項2] pHが4以下であり、アンモニア態窒素を含む培養液を用いて、Coccomyxa属およびその近縁生物群、又はPseudococcomyxa属の微細藻類を屋外の開放系培養システムにおいて培養する微細藻類の培養方法。
- [請求項3] 前記微細藻類の培養に用いた前記培養液から前記微細藻類を回収し、回収後の前記培養液を用いて新たな前記微細藻類を屋外の開放系培養システムにおいて培養する請求項1又は2記載の微細藻類の培養方法。
- [請求項4] 請求項1～3のいずれか1項に記載の微細藻類の屋外の開放系での培養方法に使用する開放系培養システム(1)であって、
 前記培養液における、pH、CO₂濃度、及び藻体濃度から成るパラメータ群から選ばれる1以上のパラメータを検知する検知部(7、9)と、
 前記パラメータを所定の範囲内に制御する制御部(11、13、15)と、
 を備える開放系培養システム。
- [請求項5] 前記1以上のパラメータにpHが含まれ、
 pHにおける前記所定の範囲が、4以下である請求項4に記載の開放系培養システム。
- [請求項6] 前記1以上のパラメータにCO₂濃度が含まれ、
 CO₂濃度における前記所定の範囲が、7.45～74.5mg/Lである請求項4又は5に記載の開放系培養システム。

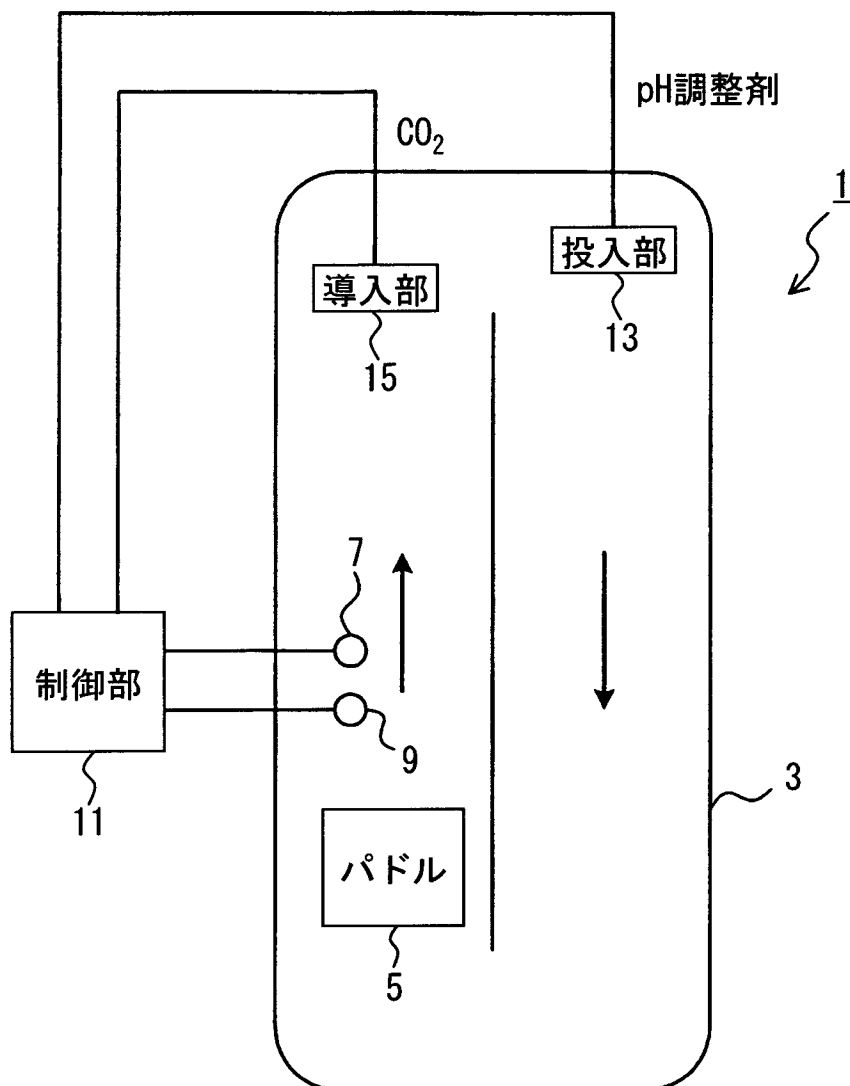
[図1]



[図2]



[図3]



[図4]

	窒素含量 (重量%)	油脂含量 (重量%)
実施例1	3.1	22.4
実施例2	2.7	20.9
実施例3	2.7	-

[図5]

	油脂含量 (重量%)
2回目	24.2
3回目	24.8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2013/007118

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12N1/12(2006.01)i, C12M1/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N1/12, C12M1/00, C12N15/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), BIOSIS/MEDLINE/WPIDS/WPIX (STN), CAPlus (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Co-hosted by Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council & Research and Development Initiative Chuo University, International Symposium on Algel Biofuels, 17 November 2011 (17.11.2011), all pages, reference URL < http://www.bio.chuo-u.ac.jp/harayama/u >	1-6
X	Hiroaki FUKUDA et al., "Biofuel Production from a Green Alga Pseudochoricystis ellipsoidea", Journal of The Japan Institute of Energy, 20 November 2012 (20.11.2012), vol.91, no.11, pages 1166 to 1171	1-6

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 28 January, 2014 (28.01.14)	Date of mailing of the international search report 10 February, 2014 (10.02.14)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/007118

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WANG H., et al., The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae, Bioresour. Technol., 2012.11.07, Vol.128, p.745-750, Epub	1-6

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C12N1/12(2006.01)i, C12M1/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C12N1/12, C12M1/00, C12N15/09		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2014年 日本国実用新案登録公報 1996-2014年 日本国登録実用新案公報 1994-2014年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), BIOSIS/MEDLINE/WPIDS/WPIX(STN), CAplus(STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	共催（農林水産技術会議事務局、中央大学研究開発機構）、 藻類バイオ燃料の実用化に向けて、 国際シンポジウム、2011.11.17, 全ページ、 参考URL< http://www.bio.chuo-u.ac.jp/harayama/u >	1-6
X	福田裕章, 外4名, 微細藻類シュードコリスチス・エリプソイディアによるバイオ燃 料の生産, 日本エネルギー学会誌, 2012.11.20, Vol.91, No.11, p.1166-1171	1-6
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 28.01.2014	国際調査報告の発送日 10.02.2014	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ISA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 小金井 悟 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	4 N 3 9 6 1

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WANG H., et al., The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae, Bioresour. Technol., 2012. 11. 07, Vol. 128, p. 745-750, Epub	1-6