

명세서

발명의 명칭: 높은 조단백질 함량을 갖는 백색의 클로렐라 프로토테코이데스 균주 및 이를 이용한 클로렐라 균체의 제조방법 기술분야

- [1] 본 발명은 높은 조단백질 함량을 갖는 백색의 클로렐라 프로토테코이데스 (*Chlorella protothecoides*) 균주 및 상기 균주의 배양액으로부터 클로렐라 균체를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- 배경기술**
- [2] 미세 담수 녹조류 중 하나인 클로렐라는 인체에 유익한 탄수화물, 단백질, 지방 뿐 아니라 엽록소(즉, 클로로필로 지칭되는 녹색 색소), 비타민, 미네랄 등의 영양소를 함유하고 있어, 우주 식품으로도 선정된 영양학적으로 가치가 뛰어난 식품의 원료로 알려져 있다. 이 외에도 건강 기능 식품의 원료로도 널리 이용되고 있는 클로렐라는 높은 항산화 효과뿐 아니라, 피부건강과 면역기능 증진, 혈중콜레스테롤 개선에도 도움을 줄 수 있다. 클로렐라는 독립영양배양, 종속영양배양, 또는 이들의 조합에 의해 배양되며, 탄소원, 질소원, 미량금속, 미량원소 등을 포함하는 배지 중에서 배양될 수 있다. 클로로필을 함유하고 있는 녹색의 클로렐라는 pH 및/또는 열에 불안정하여 쉽게 갈색으로 변하는 특성을 갖는다.
- [3] 클로렐라 유래의 조단백질(crude proteins) 즉, 클로렐라 균주가 가지고 있는 조단백질은 순수한 단백질과 핵산, 아미드 화합물, 요소(urea) 등으로 구성되어 있다. 본 발명자들은 높은 조단백질 생산능을 갖는 클로렐라 속 균주[예를 들어, 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7) (KCTC 18633P)] 및 이를 이용한 클로렐라 유래의 조단백질의 제조방법을 개발한 바 있다 (대한민국 특허등록 제10-2026681호).
- [4] 한편, 국제특허 공개 제WO2010/120923호는 미세조류 바이오매스를 포함하는 미세조류 식품 조성물을 개시한 바 있다. 상기 미세조류 바이오매스는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 종으로부터 N-메틸-N'-니트로-N-니트로소구아니딘(NTG) 처리를 통하여 선별된 백색의 돌연변이체[즉, 클로렐라 프로토테코이데스 33-55 균주(PTA-10396)]의 균체(biomass)이다. 그러나, 국제특허 공개 제WO2010/120923호에 개시된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55 균주(PTA-10396)의 균체(바이오매스)는 높은 지질 함량(약 68%)을 가짐으로써, 상대적으로 낮은 조단백질 함량(예를 들어, 탄수화물, 수분, 회분의 양을 0%로 가정하더라도 최대 32%)을 갖는다.
- [5] 따라서, 식품 등에 첨가될 때 야기되는 발색의 문제를 해소할 수 있는 바이오매스(균체)를 제공할 수 있는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주로서, 균체 내 높은 조단백질 함량을 갖는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*)를 발굴해 내는 것이 당업계에 요구되고 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명자들은 높은 조단백질 생산능을 갖는 백색의 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주를 개발하기 위하여 다양한 연구를 수행하였다. 특히, 본 발명자들에 의해 개발된 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7)(KCTC 18633P)에 대한 N-메틸-N'-니트로-N-니트로소구아니딘(NTG) 처리를 통하여 다양한 변이주들을 얻었으며, 얻어진 변이주들의 백색도 및 조단백질 생산능을 평가하였다. 그 결과, 선별된 특정 균주가 높은 조단백질 생산능을 나타내면서 백색의 바이오매스를 제공한다 는 것을 발견하였다.
- [7] 따라서, 본 발명은 상기 선별된 신규의 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [8] 또한, 본 발명은 상기 신규의 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주를 배양하고, 균체를 회수하는 것을 포함하는 클로렐라 균체의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [9] 본 발명의 일 태양에 따라, 하기 식으로부터 계산된 백색도(WI)가 70 이상이고, 균체 중 조단백질 함량이 55 중량% 이상인 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주가 제공된다.
- [10]
$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$
- [11] 식 중, L, a, 및 b는 헨터 L, a, 및 b 값이다.
- [12] 본 발명에 따른 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주에 있어서, 균체 중 조단백질 함량은 55~80 중량%일 수 있으며, 엽록소 함량은 3.0 mg/g 건조 균체량 이하, 예를 들어 0.1~3.0 mg/g 건조 균체량일 수 있다. 일 구현예에서, 상기 균주는 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)일 수 있다.
- [13] 본 발명의 다른 태양에 따라, 상기 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주를 배양하는 단계; 및 얻어진 배양액으로부터 균체를 회수하는 단계를 포함하는, 클로렐라 균체의 제조방법이 제공된다.
- [14] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 균주는 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)일 수 있다. 상기 배양은 $MgSO_4$ 2~15 g/L, KH_2PO_4 0.5~5 g/L, $ZnSO_4$ 0.0001~0.1 g/L, $CuSO_4$ 0.0001~0.01 g/L, $CaCl_2$ 0.001~0.1 g/L 및 $FeSO_4$ 0.001~0.1 g/L을 포함하는 pH 6.5~7.5의 수성 배지 중에서 수행될 수 있다.

발명의 효과

- [15] 본 발명에 따라 얻어진 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주, 특히 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)는 높은 조단백질 생산능을 나타내면서 백색의 바이오매스를 제공할 수 있다. 따라서, 상기 균주 및 이로부터 얻어진 클로렐라 균체는 식품 등에 첨가될 때 야기되는 발색의 문제를 효과적으로 해소할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [16] 도 1은 본 발명에 따라 얻어진 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 변이주를 진탕배양하여 얻어진 배양액의 성상을 나타낸다.
- [17] 도 2는 본 발명에 따라 얻어진 신규의 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주의 배양 농축액을 분무 건조하여 얻어진 분말의 성상을 나타낸다.
- [18] 도 3은 본 발명에 따라 얻어진 신규의 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주의 배양 농축액을 분무 건조하여 얻어진 분말의 성상을 색차계를 이용하여 측정된 결과를 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [19] 본 명세서에서, 백색도(Whiteness index, WI)라 함은 공지의 방법(예를 들어, Chin-Lin Hsu et al., Food Chemistry 83 (2003) 85-92)에 따라 계산된 백색(whiteness)의 정도를 말한다. 구체적으로, 백색도(WI)는 색차계('colorimeter' 혹은 'colour differential meter')를 사용하여 샘플의 3 지점(3 spots)으로부터 측정하여 얻어진 헌터 값 즉, Hunter L, a, 및 b 값(각각 5개 샘플에 대한 평균값)으로부터 하기 식에 의해 계산된 값을 말한다.
- [20] <식 1>
- [21]
- $$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$
- [22] 식 중, L, a, 및 b는 Hunter L, a, 및 b 값을 말한다.
- [23] 본 발명은 상기 식으로부터 계산된 백색도(WI)가 70 이상이고, 균체 중 조단백질 함량이 55 중량% 이상인 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주를 제공한다.
- [24] 본 발명자들은 종래의 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7)(KCTC 18633P)를 2차에 걸쳐 N-메틸-N'-니트로-N-니트로소구아니딘(NTG)으로 처리하여 무작위 변이(random mutation)를 실시하여, 높은 균체량 및 조단백질 함량을 나타내며 또한 흰색 색상을 나타내는 변이주를 선별하였다. 또한, 선별된 변이주가 5L jar fermenter에서 유가식(Fed-batch) 배양을 통하여 효과적으로 배양될 수 있음을 확인하였다. 상기 선별된 변이주를 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)로 명명하였으며, 이를 2022년 10월 31일자로 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에 기탁하여 KCTC 15163BP의 수탁번호를 부여받았다.

- [25] 본 발명에 따른 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주에 있어서, 균체 중 조단백질 함량은 바람직하게는 55~80 중량%일 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주는 낮은 엽록소 함량을 갖는다. 예를 들어, 본 발명에 따른 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주의 엽록소 함량은 3.0 mg/g 건조 균체량(dry cell weight, DCW) 이하, 예를 들어 0.1~3.0 mg/g 건조 균체량일 수 있다. 일 구현예에서, 상기 균주는 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)일 수 있다.
- [26] 본 발명은 또한 상기 신규의 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주를 배양하는 단계; 및 얻어진 배양액으로부터 균체를 회수하는 단계를 포함하는, 클로렐라 균체의 제조방법을 제공한다.
- [27] 상기 배양은 통상의 클로렐라 배양방법(예를 들어, 대한민국 특허등록 제 10-2026681호)에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 배양은 물(예를 들어, 정제수 등) 중에 당원으로서 포도당(Glucose)을 포함하고, 인산염(KH_2PO_4 , K_2HPO_4 등), 암모늄염($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 등), 칼슘염(CaCl_2 등), 금속염(MgSO_4 , ZnSO_4 , CuSO_4 , FeSO_4 등) 등을 포함하는 배지 중에서 수행될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 배양은 MgSO_4 2~15 g/L, KH_2PO_4 0.5~5 g/L, ZnSO_4 0.0001~0.1 g/L, CuSO_4 0.0001~0.01 g/L, CaCl_2 0.001~0.1 g/L 및 FeSO_4 0.001~0.1 g/L을 포함하는 pH 6.5~7.5의 수성 배지 중에서 수행될 수 있다. 또한, 필요에 따라, 상기 배지는 소포제 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기와 같은 배지에서의 균주의 배양은 통상의 배양방법, 예를 들어 무균 탱크에서 통기량 0.3~1.0vvm, 교반을 200~500rpm의 조건에서 유가식으로 수행될 수 있다.
- [28] 상기 균체의 회수는 배양액을 예를 들어 원심분리 등에 의해 균체를 회수함으로써 수행될 수 있다. 얻어진 균체는 필요에 따라 복수의 농축과 수세 단계를 거쳐 적절한 농도로 농축하고, 통상의 방법, 예를 들어 분무건조 또는 드럼건조를 통해 분말 형태로 클로렐라 균체를 수득할 수 있다.
- [29] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명이 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [30] 실시예 1. 무작위 변이를 통한 변이주 선별
- [31] (1) 1차 변이주 선별
- [32] 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) DS-NCRC7 (KCTC 18633P)를 N-메틸-N'-니트로-N-니트로소구아니딘(NTG)으로 처리하여 무작위 변이(random mutation)를 실시하였다. 구체적으로, 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) DS-NCRC7 (KCTC 18633P)에 약 30분간 NTG를 처리한 다음, 배지(포도당 15 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, ZnSO_4 0.001 g/L, 및 한천 20 g/L)를 함유하는 플레이트에 도말하고, 약 15일 동안 배양하였다. 플레이트에서 흰색 색상을

나타내는 균주를 약 60종을 선별한 다음, 증류수에 균주를 풀어 흰색 색상을 나타내는 변이주 2종을 선별했다.

[33] (2) 2차 변이주 선별

[34] 상기 (1)에서 선별된 변이주 2종에 약 30분간 NTG를 처리한 다음, (1)과 동일한 방법으로 배지(포도당 15 g/L, MgSO₄ 2 g/L, KH₂PO₄ 1 g/L, ZnSO₄ 0.001 g/L, FeSO₄ 0.03 g/L, 및 한천 20 g/L)를 함유하는 플레이트에 도말하고, 약 15일 동안 배양하였다. 플레이트에서 흰색 색상을 나타내는 변이주 약 40종을 얻었으며, 증류수에 균주를 풀어 흰색 색상을 나타내는 변이주 2종을 선별하였다.

[35] 2차 선별된 변이주의 단백질 함량 및 성장을 확인하기 위해, 500ml 배플 플라스크에 배지[포도당 10 g/L, MgSO₄ 0.3 g/L, KH₂PO₄ 0.7 g/L, ZnSO₄ 0.001 g/L, 및 FeSO₄ 0.03 g/L를 함유하는 수용액(pH7.0)]를 첨가하고 진탕배양하였다. 상기 진탕배양은 시작 액량 100 ml, 배양 온도 28°C, 교반 속도 140 rpm의 조건으로 48시간 동안 수행하였다. 상기와 같이 48시간 동안 진탕배양을 수행한 후, 각각의 배양 플라스크에서 얻어진 균체량 및 조단백질 함량을 측정하였다. 균체량은 원심 분리하여 배지를 제거한 후 증류수로 2회 수세한 현탁액을 105°C에서 24시간 건조한 후 무게를 측정하여 얻었다. 조단백질 함량은 원심분리하여 배지를 제거한 후 증류수로 2회 수세한 현탁액을 황산(H₂SO₄)과 분해촉진제 Kjeltabs S-3.4 (Foss 사제)를 가하여 가열 분해한 후, Kjeldahl 질소정량분석법을 이용하여 측정하여 얻었다. 그 결과는 하기 표 1과 같다. 또한, 진탕배양을 통해 얻어진 배양액의 성상은 도 1과 같다.

[36] [표1]

변이주	균체량(g/L)	조단백질(%)
DS-NCRC7W	4.8	67.21
DS-NCRC7W03	4.4	66.04

[37] 상기 표 1의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, DS-NCRC7W는 높은 균체량 및 조단백질 함량을 나타내는 것을 확인할 수 있다. 상기 선별된 변이주, 즉 DS-NCRC7W를 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)로 명명하였으며, 이를 2022년 10월 31일자로 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에 기탁하여 KCTC 15163BP의 수탁번호를 부여받았다.

[38] 실시예 2. 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W (*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)의 5L JF 배양

[39] 5L jar fermenter에 배지[포도당 40 g/L, MgSO₄ 3 g/L, KH₂PO₄ 2 g/L, ZnSO₄ 0.05 g/L, CuSO₄ 0.0005 g/L, CaCl₂ 0.04 g/L 및 FeSO₄ 0.01 g/L을 함유하는 수용액(pH 7.2)]을 첨가하고, DS-NCRC7W 균주[즉, 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)]를 교반속도 500 rpm 및 통기량 1.6 vvm의 조건하에서 약 3일 동안 배양하였다. 배양 종료 후, 일정량을 채취하여 세포건조중량(DCW) 및 조단백질 함량을 측정하였다. 균체

량은 원심분리하여 배지를 제거한 후 증류수로 2회 수세한 현탁액을 105°C에서 24시간 건조한 후 무게를 측정하여 얻었다. 조단백질 함량은 원심분리하여 배지를 제거한 후 증류수로 2회 수세한 현탁액을 황산(H₂SO₄)과 분해촉진제 Kjeltabs S-3.4 (Foss사제)를 가하여 가열 분해한 후, Kjeldahl 질소정량분석법을 이용하여 측정하여 얻었다. 그 결과는 하기 표 2와 같다.

[40] [표2]

변이주	균체량(g/L)	조단백질(%)
DS-NCRC7W	43.4	60.12

[41] 또한, 배양액을 원심분리하여 상등액을 취하고, 약 2배 농축하여 배양 농축액을 얻었다. 얻어진 배양 농축액 1L를 분무 건조하여 분말을 얻었으며, 얻어진 분말의 성상은 도 2와 같다.

[42] 실시예 3. 엽록소 함량 및 색차계 측정

[43] 본 발명에 따라 얻어진 DS-NCRC7W 균주[즉, 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)], 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) DS-NCRC7 (KCTC 18633P), 및 클로렐라 불가리스(*Chlorella vulgaris*, dsv77)를 각각 5L jar fermenter에서 배양한 후 얻어진 분말을 시료로 하여, 식품의약품안전처의 건강기능식품의 기준 및 규격 고시 전문 시험법[총 엽록소(제1법) 방법]에 의거하여 총 엽록소 함량을 측정하였다. 구체적으로, 각각의 분말에 증류수를 가하여 30분 동안 방치하고, 이를 원심분리관에 넣은 후, 알칼리성 피리딘 용액을 혼합하여 60°C 수욕상에서 15분 동안 방치한 다음, 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이를 알칼리성 피리딘 용액으로 대조하여 파장 419 nm 및 454 nm에서 흡광도를 측정하여 총 엽록소를 정량하였다. 그 결과는 하기 표 3과 같다.

[44] [표3]

균주	총 엽록소(mg/g)
DS-NCRC7W [<i>Chlorella protothecoides</i> DS-NCRC7W (KCTC 15163BP)]	0.72
DS-NCRC7 [<i>Chlorella protothecoides</i> DS-NCRC7 (KCTC 18633P)]	0.21
클로렐라 불가리스 (<i>Chlorella vulgaris</i> , dsv77)	28.64

[45] 또한, 색차계(Konica minolta사제)를 사용하여 각각의 분말(분말당 5개 샘플)에 대하여 현터 L, a, 및 b 값(평균 및 SD)을 얻었으며, 이로부터 하기 식에 의해 백색도(WI)를 계산하였다. 그 결과는 표 4와 같다.

[46] <식 1>

[47]
$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

[48] 식 중, L, a, 및 b는 헨터 L, a, 및 b 값을 말한다.

[49] [표4]

시료	측정값	평균	SD	백색도 (WI)	성상
DS-NCRC7W [<i>Chlorella protothecoides</i> DS-NCRC7W (KCTC 15163B P)]	L	87.62	0.02	79	도 3 (A)
	a	0.54	0.02		
	b	16.72	0.09		
DS-NCRC7 [<i>Chlorella protothecoides</i> DS-NCRC7 (KCTC 18633P)]	L	75.76	0.09	31	도 3 (B)
	a	2.88	0.08		
	b	64.18	0.23		
클로렐라 불가리스 (<i>Chlorella vulgaris</i> , dsv77)	L	21.25	0.14	21	도 3 (C)
	a	-3.75	0.13		
	b	6.06	0.17		

[50] 상기 표 3 및 표 4(도 3)의 결과로부터, 본 발명에 따라 선별된 DS-NCRC7W 균주[즉, 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)]는 엽록소 함량이 3.0 mg/g 건조균체량(dry cell weight) 이하이고, 흰색의 색상을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[51]

특허수속을 위한 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약

국제양식
원 기탁에 있어서의 수탁증
규칙 7.1 에 따라 발행됨

수신 : 대상 주식회사
대상 주식회사
서울특별시 강서구 마곡중앙로 178
대한민국

I. 미생물의 표시	
기탁자가 부여한 식별 표시: 클로렐라 프로토데코이데스 DS-NCRC7W	국제기탁기관이 부여한 수탁번호: KCTC 15163BP
II. 과학적 성질 및/또는 분류학상 위치	
상기 I 란의 미생물에는 다음 사항이 첨부되어 있다. ☐ 과학적 성질 ☐ 제안된 분류학상 위치 (해당란에 X 표시)	
III. 수령 및 수탁	
본 국제기탁기관은 2022 년 10 월 31 일에 수령한, 상기 I 란의 미생물을 수탁한다.	
IV. 이관청구의 수령	
본 국제기탁기관은 에 상기 I 란의 미생물을 수령하였으며 에 원기탁에서 부다페스트 조약에 의거한 기탁으로의 이관청구를 수령하였다.	
V. 국제기탁기관	
명칭 : 생물자원센터 (KCTC) 주소 : 한국생명공학연구원 (KRIBB) 대한민국 전라북도 56212 정읍시 입신길 181	국제기탁기관을 대표하는 권한을 가진 자 또는 권한을 부여받은 공무원의 서명 (서명) 기관장 : 김 성 건 일자 : 2022 년 11 월 30 일

청구범위

- [청구항 1] 하기 식으로부터 계산된 백색도(WI)가 70 이상이고, 균체 중 조단백질 함량이 55 중량% 이상인 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주.
- $$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$
- 식 중, L, a, 및 b는 헨터 L, a, 및 b 값이다.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 균체 중 조단백질 함량이 55~80 중량%인 것을 특징으로 하는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 엽록소 함량이 3.0 mg/g 건조 균체량 이하인 것을 특징으로 하는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 엽록소 함량이 0.1~3.0 mg/g 건조 균체량인 것을 특징으로 하는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주.
- [청구항 5] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 균주가 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)인 것을 특징으로 하는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주.
- [청구항 6] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 균주를 배양하는 단계; 및 얻어진 배양액으로부터 균체를 회수하는 단계를 포함하는, 클로렐라 균체의 제조방법.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 균주가 클로렐라 프로토테코이데스 DS-NCRC7W(*Chlorella protothecoides* DS-NCRC7W)(KCTC 15163BP)인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 배양이 $MgSO_4$ 2~15 g/L, KH_2PO_4 0.5~5 g/L, $ZnSO_4$ 0.0001~0.1 g/L, $CuSO_4$ 0.0001~0.01 g/L, $CaCl_2$ 0.001~0.1 g/L 및 $FeSO_4$ 0.001~0.1 g/L을 포함하는 pH 6.5~7.5의 수성 배지 중에서 수행되는 것을 특징으로 하는 제조방법.