

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 1 年 12 月 19 日 (2019.12.19)

【公表番号】特表 2019-501636 (P2019-501636A)

【公表日】平成 31 年 1 月 24 日 (2019.1.24)

【年通号数】公開・登録公報 2019-003

【出願番号】特願 2018-522994 (P2018-522994)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/56 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 9/24 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 1 1 D 7/42 (2006.01)

D 0 6 L 4/40 (2017.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/56 Z N A

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 9/24

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 C

C 1 1 D 7/42

D 0 6 L 4/40

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 11 月 1 日 (2019.11.1)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

基準ポリペプチドに由来し、マンナナーゼ活性を有する、マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片であって、

前記基準ポリペプチドと比較して、

( a ) ( i ) X 1 V、X 1 L、X 2 S、X 3 R、X 4 S、X 6 S、X 6 E、X 1 0 T、X 1 0 S、X 1 9 E、X 2 8 A、X 2 8 S、X 3 0 T、X 3 8 E、X 5 9 D、X 5 9 V、X 6 0 Q、X 6 1 W、X 6 2 E、X 6 3 R、X 6 3 L、X 6 6 V、X 6 7 D、X 6 8 S、X 7 0 R、X 7 1 D、X 7 4 E、X 7 4 S、X 7 5 L、X 7 8 D、X 7 8 H、X 8 0 T、X 8 2 M、X 9 3 R、X 9 7 D、X 9 7 L、X 1 0 3 I、X 1 1 1 D、X 1 1 1 S、X 1 2 4 V、X 1 2 9 M、X 1 3 1 A、X 1 3 5 L、X 1 3 6 L、X 1 3 9 M、X 1 4 3 Q、X 1 4 3 R、X 1 5 0 T、X 1 6 7 Y、X 1 6 8 A、X 1 6 8 S、X 1 8 4 D、X 1 8 4 L

、X 2 1 3 A、X 2 1 4 I、X 2 1 7 P、X 2 2 5 C、X 2 2 5 P、X 2 2 8 V、X 2 3 5 L、X 2 4 2 L、X 2 4 4 L、X 2 5 8 D、X 2 5 9 P、X 2 6 1 Q、X 2 6 1 R、X 2 8 3 S、X 2 8 4 A、及びX 2 8 4 Eから選択される1つ若しくは複数の位置での1つ若しくは複数の置換、並びに(i i)位置Z 2 9 8 . 0 1 Qでの挿入(式中、Xは、任意のアミノ酸である)；又は

(b) X 1 9 E、X 3 8 E、X 5 9 V、X 6 7 D、X 6 8 S、X 7 1 D、X 7 4 E、X 7 4 S、X 9 7 D、X 9 7 L、X 1 2 9 M、X 1 6 7 Y、X 1 6 8 A、X 1 6 8 S、X 1 8 4 D、X 1 8 4 L、X 2 2 5 C、X 2 2 5 P、X 2 2 8 V、X 2 3 5 L、X 2 4 2 L、X 2 4 4 L、X 2 5 8 D、X 2 6 1 Q、及びX 2 6 1 Rから選択される1つ若しくは複数の位置での2つ以上の置換(式中、Xは、任意のアミノ酸である)；

から選択される2つ以上の改変を含み、

前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片のアミノ酸位置は、配列番号14のアミノ酸配列との対応によって番号を付けられ、

前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、配列番号13のアミノ酸配列に対するアミノ酸配列同一性が少なくとも59%であり、

前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、前記基準ポリペプチドと比較して、1つ又は複数の特性が向上しており；特性の前記向上は、プロテアーゼの存在下での安定性の向上、洗剤又はバッファ中での安定性の向上、及び洗浄性能の向上から選択される、マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

#### 【請求項2】

前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は：

(a) (i) M 1 V、M 1 L、A 2 S、T 3 R、G 4 S、Y 6 S、Y 6 E、N 1 0 T、N 1 0 S、P 1 9 E、G 2 8 A、G 2 8 S、S 3 0 T、T 3 8 E、S 5 9 D、S 5 9 V、L 6 0 Q、Y 6 1 W、T 6 2 E、K 6 3 R、K 6 3 L、L 6 6 V、N 6 7 D、A 6 8 S、K 7 0 R、N 7 1 D、N 7 4 E、N 7 4 S、V 7 5 L、Q 7 8 D、Q 7 8 H、K 8 0 T、I 8 2 M、K 9 3 R、N 9 7 D、N 9 7 L、V 1 0 3 I、E 1 1 1 D、E 1 1 1 S、I 1 2 4 V、Y 1 2 9 M、T 1 3 1 A、T 1 3 5 L、A 1 3 6 L、D 1 3 9 M、K 1 4 3 Q、K 1 4 3 R、N 1 5 0 T、F 1 6 7 Y、P 1 6 8 A、P 1 6 8 S、Q 1 8 4 D、Q 1 8 4 L、N 2 1 3 A、K 2 1 4 I、A 2 1 7 P、G 2 2 5 C、G 2 2 5 P、T 2 2 8 V、Y 2 3 5 L、Q 2 4 2 L、K 2 4 4 L、S 2 5 8 D、G 2 5 9 P、N 2 6 1 Q、N 2 6 1 R、D 2 8 3 S、T 2 8 4 A、及びT 2 8 4 Eから選択される1つ若しくは複数の位置での1つ若しくは複数の置換、並びに(i i)位置Z 2 9 8 . 0 1 Qでの挿入；又は

(b) P 1 9 E、T 3 8 E、S 5 9 D、S 5 9 V、N 6 7 D、A 6 8 S、N 7 1 D、N 7 4 E、N 7 4 S、N 9 7 D、N 9 7 L、Y 1 2 9 M、F 1 6 7 Y、P 1 6 8 A、P 1 6 8 S、Q 1 8 4 D、Q 1 8 4 L、G 2 2 5 C、G 2 2 5 P、T 2 2 8 V、Y 2 3 5 L、Q 2 4 2 L、K 2 4 4 L、S 2 5 8 D、N 2 6 1 Q、及びN 2 6 1 Rから選択される1つ若しくは複数の位置での2つ以上の置換；

から選択される2つ以上の改変を含むアミノ酸配列を含み、

前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片のアミノ酸位置は、配列番号14のアミノ酸配列との対応によって番号を付けられている、請求項1に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

#### 【請求項3】

前記2つ以上の改変は：

(i) 1 2 9 - 2 4 4、1 2 9 - 1 4 3 - 2 4 4、3 8 - 2 5 8、3 8 - 1 4 3 - 2 5 8、1 9 - 1 8 4、1 9 - 1 4 3 - 1 8 4、9 7 - 2 2 5、9 7 - 1 4 3 - 2 2 5、6 0 - 6 1、6 7 - 1 6 8、6 7 - 1 4 3 - 1 6 8、6 3 - 7 1、6 3 - 7 1 - 1 4 3、2 2 8 - 2 3 5、及び1 4 3 - 2 2 8 - 2 3 5から選択される1つ又は複数の組み合わせられた位置での2つ以上の置換；

(i i) Y 1 2 9 X - K 2 4 4 X、Y 1 2 9 X - K 1 4 3 X - K 2 4 4 X、T 3 8 X - S

2 5 8 X、T 3 8 X - K 1 4 3 X - S 2 5 8 X、P 1 9 X - Q 1 8 4 X、P 1 9 X - K 1 4 3 X - Q 1 8 4 X、N 9 7 X - G 2 2 5 X、N 9 7 X - K 1 4 3 X - G 2 2 5 X、L 6 0 X - Y 6 1 X、N 6 7 X - P 1 6 8 X、N 6 7 X - K 1 4 3 X - P 1 6 8 X、K 6 3 X - N 7 1 X、K 6 3 X - N 7 1 X - K 1 4 3 X、T 2 2 8 X - Y 2 3 5 X、及び K 1 4 3 X - T 2 2 8 X - Y 2 3 5 X から選択される 1 つ又は複数の組み合わせられた位置での 2 つ以上の置換（式中、X は、任意のアミノ酸である）；

( i i i ) X 1 2 9 M - X 2 4 4 L、X 1 2 9 M - X 1 4 3 Q - X 2 4 4 L、X 3 8 E - X 2 5 8 D、X 3 8 E - X 1 4 3 Q - X 2 5 8 D、X 1 9 E - X 1 8 4 D、X 1 9 E - X 1 4 3 Q - X 1 8 4 D、X 1 9 E - X 1 8 4 L、X 1 9 E - X 1 4 3 Q - X 1 8 4 L、X 9 7 D - X 2 2 5 C、X 9 7 D - X 1 4 3 Q - X 2 2 5 C、X 9 7 D - X 2 2 5 P、X 9 7 D - X 1 4 3 Q - X 2 2 5 P、X 6 0 Q - X 6 1 W、X 6 7 D - X 1 6 8 S、X 6 7 D - X 1 4 3 Q - X 1 6 8 S、X 6 3 L - X 7 1 D、X 6 3 L - X 7 1 D - X 1 4 3 Q、X 6 3 R - X 7 1 D、X 6 3 R - X 7 1 D - X 1 4 3 Q、X 2 2 8 V - X 2 3 5 L、及び X 1 4 3 Q - X 2 2 8 V - X 2 3 5 L から選択される 1 つ又は複数の組み合わせられた位置での 2 つ以上の置換（式中、X は、任意のアミノ酸である）；及び

( i v ) Y 1 2 9 M - K 2 4 4 L、Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - K 2 4 4 L、T 3 8 E - S 2 5 8 D、T 3 8 E - K 1 4 3 Q - S 2 5 8 D、P 1 9 E - Q 1 8 4 D、P 1 9 E - K 1 4 3 Q - Q 1 8 4 D、P 1 9 E - Q 1 8 4 L、P 1 9 E - K 1 4 3 Q - Q 1 8 4 L、N 9 7 D - G 2 2 5 C、N 9 7 D - K 1 4 3 Q - G 2 2 5 C、L 6 0 Q - Y 6 1 W、N 9 7 D - G 2 2 5 P、N 9 7 D - K 1 4 3 Q - G 2 2 5 P、N 6 7 D - P 1 6 8 S、N 6 7 D - K 1 4 3 Q - P 1 6 8 S、K 6 3 L - N 7 1 D、K 6 3 L - N 7 1 D - K 1 4 3 Q、K 6 3 R - N 7 1 D、K 6 3 R - N 7 1 D - K 1 4 3 Q、T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L、及び K 1 4 3 Q - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L；

から選択され、

前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片のアミノ酸位置は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列との対応によって番号を付けられている、請求項 1 又は 2 に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

#### 【請求項 4】

前記 2 つ以上の改変は、P 1 9 E - T 3 8 E - K 6 3 L - N 7 1 D - Y 1 2 9 M - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；N 6 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - G 2 5 9 P；P 1 9 E - K 6 3 L - N 6 7 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - K 2 4 4 L；P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - N 7 1 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - G 2 2 5 C - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；T 3 8 E - K 6 3 L - N 7 1 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Q 2 4 2 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；P 1 9 E - K 6 3 L - N 7 1 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - G 2 5 9 P；N 1 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3 R - L 6 6 V - A 6 8 S - N 7 4 S - V 7 5 L - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y 1 2 9 M - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4 L - A 2 1 7 P - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q；P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - N 7 1 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4 L - A 2 1 7 P - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；T 3 8 E - K 6 3 L - N 6 7 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；P 1 9 E - N 6 7 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L；P 1 9 E - T 3 8 E - K 6 3 L - N 7 1 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - N 9 7 D - Q 1 8 4 L - A 2 1 7 P - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R；

N 1 0 T - P 1 9 E - G 2 8 S - S 3 0 T - T 3 8 E - N 6 7 D - N 7 1 D - N 9 7 D -  
Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8  
D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; P 1 9 E - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3  
R - N 6 7 D - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4  
L - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q  
; P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - N 7 1 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - Y 1 2 9  
M - P 1 6 8 S - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2  
9 8 . 0 1 Q ; P 1 9 E - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3 L - K 7 0 R - N 7 1  
D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - E 1 1 1 D - Y 1 2 9 M - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C  
- T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ;  
N 1 0 T - T 3 8 E - K 6 3 L - N 7 1 D - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y 1 2 9 M - F 1 6  
7 Y - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N  
2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - Q 7 8 D - K  
8 0 T - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - Q 1 8 4 L - A 2 1 7 P - G 2 2 5 C - T  
2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; N 1  
0 T - P 1 9 E - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3 L - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y  
1 2 9 M - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D  
- N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q  
- K 6 3 R - N 6 7 D - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y 1 2 9 M - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4 L -  
G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8  
. 0 1 Q ; P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3 R - N 6 7 D -  
Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - I 1 2 4 V - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - F 1 6 7 Y - Q  
1 8 4 L - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 .  
0 1 Q ; N 1 0 S - P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3 L - N  
6 7 D - Q 7 8 H - K 8 0 T - I 8 2 M - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - F 1 6 7  
Y - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2  
9 8 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3  
R - N 6 7 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - G 2 2 5  
C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q  
; G 4 S - N 1 0 T - P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D -  
Y 1 2 9 M - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8  
D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9  
V - L 6 0 Q - K 6 3 L - K 7 0 R - N 7 1 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - Y 1 2  
9 M - T 1 3 1 A - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S  
2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E -  
S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3 L - K 7 0 R - N 7 1 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D -  
E 1 1 1 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5  
L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; P 1 9 E - S 3 0 T - T  
3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3 R - N 6 7 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S  
- Q 1 8 4 L - K 2 1 4 I - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6  
1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0  
Q - K 6 3 R - N 6 7 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L  
- G 2 2 5 P - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9  
8 . 0 1 Q ; M 1 V - P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - T 6 2 E - N 6 7 D - N 7 1 D -  
Q 7 8 D - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 R - F 1 6 7 Y - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L -  
G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - T 2 8 4 A - Z 2 9 8  
. 0 1 Q ; Y 6 E - N 1 0 T - P 1 9 E - G 2 8 S - S 3 0 T - T 3 8 E - K 6 3 L - N  
6 7 D - N 7 1 D - N 9 7 D - E 1 1 1 S - Y 1 2 9 M - S 1 3 5 L - P 1 6 8 S - Q 1  
8 4 L - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 Q -  
D 2 8 3 S - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V -

L 6 0 Q - K 6 3 R - N 6 7 D - N 7 1 D - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y 1 2 9 M - K 1 4  
 3 Q - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 P - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S  
 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; A 2 S - P 1 9 E - G 2 8 S - S 3 0 T - T  
 3 8 E - K 6 3 R - N 6 7 D - N 7 1 D - N 7 4 E - K 9 3 R - N 9 7 D - Y 1 2 9 M -  
 N 1 5 0 T - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - N 2 1 3 A - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4  
 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 Q - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; M 1 L - N 1 0 T - P 1 9 E - G 2 8  
 A - S 3 0 T - T 3 8 E - K 6 3 L - N 6 7 D - N 7 1 D - Q 7 8 D - N 9 7 D - Y 1 2  
 9 M - A 1 3 6 L - P 1 6 8 A - Q 1 8 4 L - N 2 1 3 A - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K  
 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; P 1 9 E - T 3 8 E - S 5 9 V  
 - K 6 3 R - N 6 7 D - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y 1 2 9 M - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4 L -  
 G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8  
 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - G 2 8 A - S 3 0 T - T 3 8 E - K 6 3 R - N 6 7 D -  
 N 9 7 D - Y 1 2 9 M - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L  
 - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; T 3 R - N 1 0 T - P 1 9 E - G 2 8 A  
 - S 3 0 T - T 3 8 E - T 6 2 E - N 6 7 D - N 7 1 D - K 9 3 R - N 9 7 L - E 1 1 1  
 S - Y 1 2 9 M - D 1 3 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2  
 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 Q - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; N 1 0 T - P 1 9 E - G 2 8 A -  
 S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 D - N 6 7 D - A 6 8 S - N 7 1 D - K 9 3 R - N 9 7 D -  
 Y 1 2 9 M - K 1 4 3 Q - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 D - G 2 2 5 C - Y 2 3 5 L - K 2 4 4  
 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - T 2 8 4 E - Z 2 9 8 . 0 1 Q ; P 1 9 E - K 6 3 L - N  
 7 1 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - G 2 2 5 C - K 2 4 4 L ; P 1 9 E - N  
 6 7 D - N 7 1 D - Q 7 8 D - K 8 0 T - N 9 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4  
 L - K 2 4 4 L ; P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L  
 - T 2 2 8 V - K 2 4 4 L ; P 1 9 E - T 3 8 E - N 6 7 D - Y 1 2 9 M - Q 1 8 4 L -  
 K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R ; P 1 9 E - K 6 3 L - N 7 1 D - Y 1 2 9 M - P  
 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R ; P 1 9 E - T 3 8 E - K  
 6 3 L - N 7 1 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - G  
 2 5 9 P ; K 6 3 L - N 7 1 D - Y 1 2 9 M - K 1 4 3 R - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - G  
 2 2 5 C - T 2 2 8 V - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - G 2 5 9 P ; 又は P 1 9 E - T 3 8 E  
 - K 6 3 L - N 7 1 D - Y 1 2 9 M - P 1 6 8 S - Q 1 8 4 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D  
 - N 2 6 1 R から選択され、前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片  
 のアミノ酸位置は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列との対応によって番号を付けられている  
 、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチ  
 ド若しくは活性断片。

【請求項 5】

前記 2 つ以上の改変は、P 1 9 E - S 3 0 T - T 3 8 E - S 5 9 V - L 6 0 Q - K 6 3  
 R - N 6 7 D - N 9 7 D - V 1 0 3 I - Y 1 2 9 M - F 1 6 7 Y - Q 1 8 4 L - G 2 2 5  
 C - T 2 2 8 V - Y 2 3 5 L - K 2 4 4 L - S 2 5 8 D - N 2 6 1 R - Z 2 9 8 . 0 1 Q  
 であり；

前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片のアミノ酸位置は、配列番  
 号 1 4 のアミノ酸配列との対応によって番号を付けられている、請求項 1 ~ 4 のいずれか  
 一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

【請求項 6】

前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片はさらに：

- ( i ) 位置 3 1 ~ 4 0 にて  $W X_a K N D L X X A I$  ( 配列番号 1 5 ) のモチーフ ( 式中、  
 $X_a$  は、F 又は Y であり、X は、任意のアミノ酸である ) ；
- ( i i ) 位置 2 6 3 ~ 2 7 4 にて  $L D X X X G P X G X L T$  ( 配列番号 1 6 ) のモチーフ  
( 式中、X は、任意のアミノ酸である ) ；
- ( i i i ) 位置 2 6 3 ~ 2 7 4 にて  $L D X_1 V / A T / A G P X_2 G X_3 L T$  ( 配列番号  
1 7 ) のモチーフ ( 式中、 $X_1$  は、M 又は L であり、 $X_2$  は、N、A、又は S であり、X

3 は、S、T、又はNである) ; 及び

( i v ) 位置 2 6 3 ~ 2 7 4 にて L D M / L A T G P N / A G S / T L T ( 配列番号 1 8 ) のモチーフ

から選択される 1 つ又は複数のモチーフを含み、

前記変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片のアミノ酸位置は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列との対応によって番号を付けられている、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

【請求項 7】

配列番号 1 3 のアミノ酸配列に対するアミノ酸配列同一性が少なくとも 8 0 % であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

【請求項 8】

前記基準ポリペプチドは、G H 5 マンナナーゼであり、前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、場合によっては、G H 5 マンナナーゼ又はエンド - マンナナーゼである、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

【請求項 9】

前記基準ポリペプチドは、配列番号 1 4、配列番号 3 0、配列番号 4 3、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 1 6 0、及び配列番号 1 6 2 から選択され、そして、前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、前記基準ポリペプチドのアミノ酸配列とのアミノ酸配列同一性が、少なくとも 5 9 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % である、請求項 8 に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

【請求項 1 0】

特性の前記向上は、

( i ) 洗剤中での安定性の向上であって、前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、約 4 0 ~ 約 7 0、約 4 5 ~ 約 6 5、約 5 0 ~ 約 6 0、約 6 0 ~ 約 7 0、又は約 5 6 の温度にて、少なくとも 5 分間、少なくとも 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、又は 5 0 % の残留マンナナーゼ活性を保持する、向上 ;

( i i ) プロテアーゼの存在下での安定性の向上であって、前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、プロテアーゼ及び / 又は界面活性剤の存在下で、少なくとも 1 5 日間、又は約 1 5 ~ 約 4 0 日間、マンナナーゼ活性を少なくとも 5 0 % 保持する、向上 ;

( i i i ) 洗浄性能の向上であって、前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、ローカストビーンガムの染みの洗浄 P I が > 1 である、向上 ; 並びに

( i v ) 年数を経た洗浄性能の向上であって、前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片は、7 時間後に洗浄活性が少なくとも 1 5 % 残留しており、又は 9 時間後に洗浄活性が少なくとも 1 1 % 残留している、向上

である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

【請求項 1 1】

前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片はさらに、炭水化物 - 結合モジュールを含まない、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペ

チド若しくは活性断片を含む洗浄組成物。

【請求項 13】

少なくとも1つの界面活性剤；カルシウム及び亜鉛から選択される少なくとも1つのイオン；少なくとも1つの補助剤成分；少なくとも1つの安定化剤；約0.001重量%～約1.0重量%の、請求項1～32のいずれか一項に記載のマンナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片；少なくとも1つの漂白剤；並びに／あるいはアシルトランスフェラーゼ、アミラーゼ、アルファ-アミラーゼ、ベータ-アミラーゼ、アルファ-ガラクトシダーゼ、アラビナーゼ、アラビノシダーゼ、アリアルエステラーゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ、ベータ-グルカナーゼ、カラギナーゼ、カタラーゼ、セロビオヒドラーゼ、セルラーゼ、コンドロイチナーゼ、クチナーゼ、エンド-ベータ-1,4-グルカナーゼ、エンド-ベータ-マンナーゼ、エキソ-ベータ-マンナーゼ、エステラーゼ、エキソ-マンナーゼ、ガラクタナーゼ、グルコアミラーゼ、ヘミセルラーゼ、ヒアルロニダーゼ、ケラチナーゼ、ラッカーゼ、ラクターゼ、リグニナーゼ、リパーゼ、脂肪分解酵素、リボキシゲナーゼ、マンナーゼ、オキシダーゼ、ペクチン酸リアーゼ、ペクチンアセチルエステラーゼ、ペクチナーゼ、ペントサナーゼ、ペルヒドロラーゼ、ペルオキシダーゼ、フェノールオキシダーゼ、ホスファターゼ、ホスホリパーゼ、フィターゼ、ポリガラクトツロナーゼ、プロテアーゼ、ブルナーゼ、リダクターゼ、ラムノガラクトツロナーゼ、ベータ-グルカナーゼ、タンナーゼ、トランスグルタミナーゼ、キシランアセチルエステラーゼ、キシラナーゼ、キシログルカナーゼ、キシロシダーゼ、メタロプロテアーゼ、及びそれら組合せから選択される少なくとも1つの酵素又は酵素誘導体：をさらに含む、請求項12に記載の洗浄組成物。

【請求項 14】

前記洗浄組成物は、(i)洗濯洗剤、布地柔軟仕上げ洗剤、食器洗い洗剤、及び硬質表面洗浄洗剤から選択される洗剤組成物、及び／又は、(ii)液体、粉末、顆粒状の固体、タブレット、シート、及び単位用量から選択される形態の組成物、及び／又は、(iii)ホスフェートを含有し、若しくはホスフェートを含有せず、且つ／又はホウ素を含有し、若しくはホウ素を含有しない、組成物である、請求項12又は13に記載の洗浄組成物。

【請求項 15】

マンナンを含む汚れ又は染みを含む表面又はアイテムを、(i)請求項1～11のいずれか一項に記載のマンナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片、あるいは(ii)請求項12～14のいずれか一項に記載の洗浄組成物と接触させることを含み、前記汚れ又は前記染みに含有される前記マンナンは加水分解される、洗浄方法。

【請求項 16】

前記アイテムは、皿類又は布地である、請求項15に記載の洗浄方法。

【請求項 17】

請求項1～11のいずれか一項に記載のマンナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 18】

請求項17に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項 19】

請求項18に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 20】

請求項1～11のいずれか一項に記載のマンナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片を生産する方法であって：

(a)請求項18に記載の発現ベクターで請求項19に記載の宿主細胞を安定して形質転換することと、

(b)形質転換された前記宿主細胞を、前記宿主細胞が前記マンナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片を生産するのに適した条件下で培養することと；

(c) 前記マンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片を回収することと、  
を含む方法。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片を含む、食品組成物若しくは飼料組成物及び / 又は食品添加物。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のマンナナーゼ変異体、又はその組換えポリペプチド若しくは活性断片の、食品組成物若しくは飼料組成物、並びに / 又は食品添加物若しくは飼料添加物、並びに / 又は食品若しくは飼料及び / 若しくはペットフードの調製における使用。