

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成26年2月6日(2014.2.6)

【公表番号】特表2013-513385(P2013-513385A)

【公表日】平成25年4月22日(2013.4.22)

【年通号数】公開・登録公報2013-019

【出願番号】特願2012-543275(P2012-543275)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	9/56	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
G 0 2 C	13/00	(2006.01)
C 1 1 D	3/386	(2006.01)
C 1 1 D	7/42	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	9/56	
C 1 2 N	1/21	
G 0 2 C	13/00	
C 1 1 D	3/386	
C 1 1 D	7/42	

【手続補正書】

【提出日】平成25年12月6日(2013.12.6)

【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】

親プロテアーゼの単離されたプロテアーゼ変異体であって、前記変異体は、X 0 2 4 G / R、X 0 5 3 G、X 0 7 8 N、X 1 0 1 N、X 1 2 8 A / S 及び X 2 1 7 L / Q からなる群から選択される3つのアミノ酸置換を含むアミノ酸配列を含み、ここで、前記変異体はタンパク質分解活性を有し、前記変異体の各アミノ酸位置は、配列番号2のアミノ酸配列と前記変異体のアミノ酸配列とのアライメントによって決定される、配列番号2のアミノ酸配列におけるアミノ酸位置に対応させることにより番号付けされる、変異体。

【請求項2】

前記変異体のアミノ酸配列が、X 0 2 4 G / R、X 0 5 3 G、X 0 7 8 N、X 1 0 1 N、X 1 2 8 A / S 及び X 2 1 7 L / Q からなる群から選択される4つ、5つ、又は6つのアミノ酸置換を含む、請求項1に記載の変異体。

【請求項3】

前記変異体のアミノ酸配列がアミノ酸置換 X 0 9 7 A を更に含む、請求項1又は2のいずれか一項に記載の変異体。

【請求項4】

前記変異体のアミノ酸配列がアミノ酸置換 X 0 2 4 G / R + X 0 5 3 G + X 0 7 8 N + X 1 0 1 N + X 1 2 8 A / S + X 2 1 7 L / Q、X 0 9 7 A + X 1 2 8 A / S + X 2 1 7 L / Q、S 0 2 4 G / R + S 0 5 3 G + S 0 7 8 N + S 1 0 1 N + G 1 2 8 A / S + Y 2 1 7 L / Q、又は G 0 9 7 A + G 1 2 8 A / S + Y 2 1 7 L / Q を含む、請求項1、2、

又は3のいずれか一項に記載の変異体。

**【請求項5】**

前記変異体のアミノ酸配列がアミノ酸置換 S 0 2 4 G + S 0 5 3 G + S 0 7 8 N + S 1 0 1 N + G 1 2 8 S + Y 2 1 7 Q 又は S 0 2 4 G + S 0 5 3 G + S 0 7 8 N + S 1 0 1 N + G 1 2 8 A + Y 2 1 7 Q を含み、さらに

(i) N 1 0 9 G、N 0 7 6 D、S 0 3 3 T、N 2 4 3 V、S 2 4 8 A、A 0 8 8 T、及び S 0 6 3 G からなる群から選択される置換を含むか、又は

(ii) 以下のもの：

A 0 8 8 T + N 1 0 9 G + A 1 1 6 T + G 1 3 1 H + N 2 4 3 V + L 2 5 7 G、  
 S 0 3 3 T + N 0 7 6 D、  
 S 0 0 9 T + N 1 0 9 G + K 1 4 1 R + N 2 4 3 V、  
 S 1 6 2 G + K 2 5 6 R、  
 N 1 0 9 G + A 1 1 6 T、  
 N 1 0 9 G + L 2 5 7 G、  
 S 1 6 2 G + L 2 5 7 G、  
 N 0 6 1 G + N 1 0 9 G + N 2 4 3 V、  
 N 1 0 9 G + N 2 4 3 V + S 2 4 8 A、  
 S 0 3 3 T + N 0 7 6 D + N 1 0 9 G + N 2 1 8 S + N 2 4 3 V + S 2 4 8 N + K 2 5 6 R、  
 N 1 0 9 G + A 1 1 6 T + N 2 4 3 V + K 2 5 6 R、  
 A 0 8 8 T + N 1 0 9 G + A 1 1 6 T + G 1 3 1 H + N 2 4 3 V、  
 A 0 8 8 T + N 1 0 9 G、  
 N 1 0 9 G + N 2 4 3 V、  
 T 1 5 8 S + L 2 5 7 G、  
 N 0 6 1 S + N 1 0 9 G + N 2 4 3 V、  
 P 0 4 0 A + N 1 0 9 G + N 2 4 3 V + S 2 4 8 N + K 2 5 6 R、  
 S 0 0 9 T + S 0 1 8 T + Y 0 2 1 N + N 1 0 9 G + K 1 4 1 R、  
 A 0 8 8 T + N 1 0 9 G + A 1 1 6 T + T 1 5 8 S + N 2 4 3 V + K 2 5 6 R、  
 A 0 8 8 T + N 1 0 9 G + A 1 1 6 T + T 1 5 8 S + N 2 1 8 S + L 2 5 7 G、  
 N 1 0 9 G + K 2 5 6 R、  
 N 1 0 9 G + N 2 4 3 V + K 2 5 6 R、  
 S 0 6 3 G + K 2 5 6 R、  
 S 0 6 3 G + N 1 0 9 G、  
 S 0 6 3 G、  
 S 0 6 3 G + N 0 7 6 D、  
 S 0 3 3 T + N 0 7 6 D + N 2 1 8 S、及び

N 0 7 6 D + N 2 1 8 S からなる群から選択される1組のアミノ酸置換を更に含む、請求項4に記載の変異体。

**【請求項6】**

前記変異体のアミノ酸配列が、配列番号2又は配列番号6のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するか、又は少なくとも85%の配列同一性を有する、請求項1~5のいずれか一項に記載の変異体。

**【請求項7】**

前記変異体が、前記親プロテアーゼと比較して向上したタンパク質分解活性及び/又はクリーニング活性を有するか、あるいは、配列番号2の配列を有するBPN'プロテアーゼのタンパク質分解活性と比較して向上したタンパク質分解活性及び/又はクリーニング活性を有するか、あるいは、配列番号4の配列を有するプロテアーゼのタンパク質分解活性と比較して向上したタンパク質分解活性を有するか、あるいは、配列番号6の配列を有するプロテアーゼのタンパク質分解活性と比較して向上したタンパク質分解活性を有する、請求項1~6のいずれか一項に記載の変異体。

**【請求項 8】**

配列番号 3 若しくは配列番号 5 に記載のポリヌクレオチド配列又はその相補的ポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、請求項 1 乃至 7 のいずれか 1 項に記載の変異体をコードするポリヌクレオチド配列を有する単離された核酸。

**【請求項 9】**

請求項 8 に記載の少なくとも 1 つの核酸を含み、前記少なくとも 1 つの核酸がプロモーターに作用可能に連結されている、発現ベクター。

**【請求項 10】**

( a ) 請求項 8 に記載の核酸、あるいは、( b ) 請求項 9 に記載の発現ベクターを含み、前記宿主細胞が細菌細胞であり、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 細胞等のバチルス細胞である、組み換え宿主細胞。

**【請求項 11】**

プロテアーゼ変異体の製造方法であって、前記方法が、前記変異体の生産を促進する条件下で請求項 10 に記載の組み換え宿主細胞を培養すること、および前記細胞培養物から前記変異体を回収することを更に含む、方法。

**【請求項 12】**

組成物が布地ケア製品及びホームケア製品ではなく、コンタクトレンズをクリーニングするための洗剤組成物又はパーソナルケア用途において有用であるクリーニング組成物である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の変異体を含む組成物。

**【請求項 13】**

前記組成物が追加の酵素を含み、前記追加の酵素が、ヘミセルラーゼ、セルラーゼ、アミラーゼ、ペルオキシダーゼ、プロテアーゼ、キシラナーゼ、リバーゼ、ホスホリバーゼ、エステラーゼ、クチナーゼ、ペクチナーゼ、ペクタートリアーゼ、マンナンーゼ、ケラチナーゼ、レダクターゼ、オキシダーゼ、フェノールオキシダーゼ、リポキシゲナーゼ、リグニナーゼ、プルラナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、マラナーゼ、- グルカナーゼ、アラビノシターゼ、ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ及びラッカーゼからなる群から選択される、請求項 1 2 に記載の組成物。

**【請求項 14】**

少なくとも 1 つのビルダー及び / 又は少なくとも 1 つの界面活性剤を更に含む、請求項 1 2 又は 1 3 に記載の組成物。

**【請求項 15】**

クリーニングの必要のある物品又は表面をクリーニングするための方法であって、前記方法が、前記物品又は表面を、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の変異体、請求項 1 2 ~ 1 4 に記載の組成物と接触させることを含み、任意で前記物品又は表面を水ですすぐことを更に含む、方法。