

【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28年12月28日(2016.12.28)

【公開番号】特開2016-104043(P2016-104043A)

【公開日】平成28年6月9日(2016.6.9)

【年通号数】公開・登録公報2016-035

【出願番号】特願2016-42290(P2016-42290)

【国際特許分類】

C 1 2 P 19/18 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (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)

A 6 1 K 31/715 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/52 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 P 19/18

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 9/24

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

A 6 1 K 31/715

A 6 1 P 3/00

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 14/52

C 0 7 K 16/00

C 0 7 K 14/47

【手続補正書】

【提出日】平成28年11月11日(2016.11.11)

【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】

オリゴ糖におけるマンノース - 6 - リン酸残基をキャップ除去するための方法であって

、

a) マンノース - 1 - ホスホ - 6 - マンノース結合を有する該オリゴ糖を提供するステップと、

b) 該オリゴ糖を、該マンノース - 1 - ホスホ - 6 - マンノース残基をホスホ - 6 - マンノースに加水分解することのできるマンノシダーゼと接触させるステップと、

を含み、ここで、該マンノシダーゼが、グリコシルヒドロラーゼファミリー92のメンバーであり、ここで、該マンノシダーゼが、アノマー酸素をプロトン化し得る触媒酸残基を

含まない、方法。

【請求項2】

Bacterioides thetaiotaomicron - 1, 2 - マンノシダーゼ Bt3990 のグルタミン酸残基 Glu533 に対応する前記マンノシダーゼの残基が、非酸性残基である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

Bacterioides thetaiotaomicron - 1, 2 - マンノシダーゼ Bt3990 のグルタミン酸残基 Glu533 に対応する前記マンノシダーゼの残基が、グルタミン残基またはアスパラギン残基である、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

Bacterioides thetaiotaomicron - 1, 2 - マンノシダーゼ Bt3990 のグルタミン酸残基 Glu533 に対応する前記マンノシダーゼの残基が、グルタミン残基であり、該グルタミン残基が、 $X_1YQG X_2$ モチーフに含まれ、ここで、 X_1 が、Leu、Ile、Val、Ala、Phe、TyrまたはMetであり、そして、 X_2 が、Thr、SerまたはAsnである、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

Bacterioides thetaiotaomicron - 1, 2 - マンノシダーゼ Bt3990 のグルタミン酸残基 Glu585 に対応する前記マンノシダーゼの残基が、非酸性残基である、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

前記マンノシダーゼが、配列番号50の残基1～744、または、配列番号50に対して少なくとも70%の同一性を有す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方法。

【請求項7】

以下に列挙する特徴のうちの一つ以上を有する、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法：

(I) 前記マンノシダーゼが、以下の特徴のうちの一つ以上を有する：

a) 該マンノシダーゼが、配列番号50の残基1～774に対して、または配列番号50に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む；

b) 該マンノシダーゼが、配列番号50の残基1～774に対して、または配列番号50に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む；

c) 該マンノシダーゼが、配列番号50の残基1～774に対して、または配列番号50に対して少なくとも98%の同一性を有するアミノ酸配列を含む；

d) 該マンノシダーゼは、図33における等価原子の座標の1.5 偏差内に収まる、最小触媒中心に位置するアミノ酸側鎖中の原子の三次元タンパク質座標を有する；

e) 該マンノシダーゼが、(i) GVGXXGXGGモチーフ(式中、XはGly、Ala、Ser、ThrまたはCysである)、(ii) VRXEモチーフ(式中、XはPro以外の任意のアミノ酸である)、(iii) $X_1YQG X_2$ モチーフ(式中、 X_1 はLeu、Ile、Val、Ala、Phe、TyrまたはMetであり、 X_2 はThr、SerまたはAsnである)または(iv) GD XGN(式中、XはPro以外の任意のアミノ酸であり得る)を有するアミノ酸配列を含む；

f) 該マンノシダーゼが、該マンノシダーゼを細胞内区画にターゲティングするためのターゲティング配列を含む；

g) 該マンノシダーゼが、C. cellulosans、Streptomyces coelicolorまたはStreptomyces lividansのマンノシダーゼである；

(II) 前記接触させるステップが、精製されたマンノシダーゼ、組換えマンノシダーゼ、該組換えマンノシダーゼを含有する細胞溶解産物または該組換えマンノシダーゼを含有する真菌細胞を用いて行われる；

(III) 前記オリゴ糖がタンパク質に連結している；

(IV) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が、真菌生物において発現されるヒトタンパク質である；

(V) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が真菌生物において発現されるヒトタンパク質であり、かつ、該真菌生物が、

a) *Yarrowia lipolytica* または *Arxula adeninivorans*；

b) メチロトロフ酵母；

c) *Pichia pastoris*、*Pichia methanolica*、*Oogataea minuta* または *Hansenula polymorpha* であるメチロトロフ酵母；

d) 糸状菌；

e)

【数1】

Aspergillus caesiellus, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus carneus*,

Aspergillus clavatus, *Aspergillus deflectus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*,

Aspergillus glaucus, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*,

Aspergillus oryzae, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus penicilloides*, *Aspergillus*

restrictus, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus sydowi*, *Aspergillus tamari*, *Aspergillus terreus*,

Aspergillus ustus, または *Aspergillus versicolor*

である糸状菌；

から選択される；

(VI) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が、病原体タンパク質、リソソームタンパク質、増殖因子、サイトカイン、ケモカイン、抗体もしくはその抗原結合性断片または融合タンパク質である；

(VII) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が真菌生物において発現されるヒトタンパク質であり、かつ、該タンパク質が、病原体タンパク質、リソソームタンパク質、増殖因子、サイトカイン、ケモカイン、抗体もしくはその抗原結合性断片または融合タンパク質である；

(VIII) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質がリソソーム酵素である；

(IX) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が真菌生物において発現されるヒトタンパク質であり、かつ、該タンパク質がリソソーム酵素である；

(X) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質がリソソーム貯蔵障害(LSD)に関連するリソソーム酵素である；

(XI) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が真菌生物において発現されるヒトタンパク質であり、かつ、該タンパク質がリソソーム貯蔵障害(LSD)に関連するリソソーム酵素である；

(XII) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質がリソソーム貯蔵障害(LSD)に関連するリソソーム酵素であり、かつ、該リソソーム貯蔵障害(LSD)が、ファブリ病、ムコ多糖症I型、ファーバー病、ゴーシェ病、GM1ガングリオシドーシス、テイ・サックス病、サンドホフ病、GM2活性化因子疾患、クラッペ病、異染性白質ジストロフィー、ニーマン・ピック病、シャイエ病、ハンター病、サンフィリポ病、モルキオ病、マロトー・ラミー病、ヒアルロニダーゼ欠損症、アスパルチルグルコサミン尿症、フコシドーシス、マンノシドーシス、シンドラー病、シアリドーシス1型、ポンペ病、濃化異骨症、セロイドリポフスチン沈着症、コレステロールエステル貯蔵病、ウォルマン病、多種スルファターゼ欠損症、ガラクトシアリドーシス、ムコリピドーシス、シスチン症、シアル酸貯蔵病、マリネスコ・シェーグレン症候群を伴うカイロミクロン停滞

病、ヘルマンスキー・ブドラック症候群、チェディアック・東症候群、ダノン病または幸福顔貌骨異形成症である；

(XIII) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が真菌生物において発現されるヒトタンパク質であり、かつ、該タンパク質がリソソーム貯蔵障害(LSD)に関連するリソソーム酵素であり、かつ、該LSDが、ファブリ病、ムコ多糖症I型、ファーバー病、ゴーシェ病、GM1ガングリオシドーシス、テイ・サックス病、サンドホフ病、GM2活性化因子疾患、クラッペ病、異染性白質ジストロフィー、ニーマン・ピック病、シャイエ病、ハンター病、サンフィリポ病、モルキオ病、マロトー・ラミー病、ヒアルロニダーゼ欠損症、アスパルチルグルコサミン尿症、フコシドーシス、マンノシドーシス、シンドラー病、シアリドーシス1型、ボンペ病、濃化異骨症、セロイドリポフスチン沈着症、コレステロールエステル貯蔵病、ウォルマン病、多種スルファターゼ欠損症、ガラクトシアリドーシス、ムコリピドーシス、シスチン症、シアル酸貯蔵病、マリネスコ・シェーグレン症候群を伴うカイロミクロン停滞病、ヘルマンスキー・ブドラック症候群、チェディアック・東症候群、ダノン病または幸福顔貌骨異形成症である；

(XIV) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質がボンペ病またはファブリ病に関連するリソソーム酵素である；

(XV) 該オリゴ糖がタンパク質に連結しており、かつ、該タンパク質が真菌生物において発現されるヒトタンパク質であり、かつ、該タンパク質がボンペ病またはファブリ病に関連するリソソーム酵素である。

【請求項8】

キャップ除去されたホスホ-6-マンノース残基を有する標的タンパク質を生産する方法であって、

マンノース-1-ホスホ-6-マンノース残基をホスホ-6-マンノースに加水分解することのできるマンノシダーゼをコードする核酸を含みそして発現するように遺伝的に操作されている真菌細胞を提供するステップであって、該マンノシダーゼが、グリコシルヒドロラーゼファミリー92のメンバーであり、ここで、該マンノシダーゼが、アノマー酸素をプロトン化し得る触媒酸残基を含まない、ステップと、

該細胞に、標的タンパク質をコードする核酸を導入するステップと、
を含み、該細胞が、該細胞において発現された該発現されたマンノシダーゼによって該標的上のマンノース-1-ホスホ-6-マンノース残基がホスホ-6-マンノース残基に変換された該標的タンパク質を生産する、方法。

【請求項9】

前記マンノシダーゼが請求項2~7のいずれか一項において規定されるものである、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

以下に列挙した特徴のうちの1つ以上を有する、請求項8または9に記載の方法：

(I) 前記真菌細胞が、マンノシルリン酸化を促進することのできるポリペプチドをコードする核酸をさらに含む；

(II) 該真菌細胞が、OCH1活性を欠損するように遺伝的に操作されている。

【請求項11】

真菌生物においてキャップ除去されたホスホ-6-マンノース残基を有する標的タンパク質を生産する方法であって、

a) マンノース-1-ホスホ-6-マンノースをホスホ-6-マンノースに加水分解することのできるマンノシダーゼをコードする核酸を含みそして発現するように遺伝的に操作されており、標的タンパク質をコードする核酸をさらに含む真菌細胞を提供するステップであって、該マンノシダーゼが、グリコシルヒドロラーゼファミリー92のメンバーであり、ここで、該マンノシダーゼが、アノマー酸素をプロトン化し得る触媒酸残基を含まず、該標的タンパク質では、該細胞において発現された該発現されたマンノシダーゼによって該標的上のマンノース-1-ホスホ-6-マンノース残基がホスホ-6-マンノース残基に変換されているステップと、

b) 該キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を有する該標的タンパク質を単離するステップと、
を含む、方法。

【請求項 1 2】

前記マンノシダーゼが請求項 2 ~ 7 のいずれか一項において規定されるものである、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記標的タンパク質および前記マンノシダーゼが前記細胞により分泌される、請求項 1 1 または 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む糖タンパク質を生産するように遺伝的に操作されている単離された真菌細胞であって、マンノシダーゼをコードする核酸を含み、該真菌細胞における前記マンノシダーゼの発現が、該キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む糖タンパク質の生産をもたらし、ここで、該マンノシダーゼが、グリコシルヒドロラーゼファミリー 9 2 のメンバーであり、ここで、該マンノシダーゼが、アノマー酸素をプロトン化し得る触媒酸残基を含まない、真菌細胞。

【請求項 1 5】

前記マンノシダーゼが請求項 2 ~ 7 のいずれか一項において規定されるものである、請求項 1 4 に記載の真菌細胞。

【請求項 1 6】

以下に列挙した特徴のうちの 1 つ以上を有する、請求項 1 4 または 1 5 に記載の真菌細胞：

(I) 該真菌細胞が、マンノシルリン酸化を促進することのできるポリペプチドをコードする核酸をさらに含む；

(I I) 該真菌細胞が、O C H 1 (外鎖伸長) 活性を欠損するように遺伝的に操作されている；

(I I I) 該真菌細胞が、マンノシルリン酸化を促進することのできるポリペプチドをコードする核酸を含み、O C H 1 活性を欠損するように遺伝的に操作されている；

(I V) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含む；

(V) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がヒトタンパク質である；

(V I) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質が、病原体タンパク質、リソソームタンパク質、増殖因子、サイトカイン、ケモカイン、抗体もしくはその抗原結合性断片または融合タンパク質である；

(V I I) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がヒトタンパク質であり、かつ、該標的タンパク質が、病原体タンパク質、リソソームタンパク質、増殖因子、サイトカイン、ケモカイン、抗体もしくはその抗原結合性断片または融合タンパク質である；

(V I I I) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がリソソーム酵素である；

(I X) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がヒトタンパク質であり、かつ、該標的タンパク質がリソソーム酵素である；

(X) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がリソソーム酵素である酸性アルファグルコシダーゼまたはアルファガラクトシダーゼである；

(X I) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がヒトタンパク質であり、かつ、該標的タンパク質がリソソーム酵素である；

ーム酵素である酸性アルファグルコシダーゼまたはアルファガラクトシダーゼである；

(X I I) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質が、L S Dに関連する；

(X I I I) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がヒトタンパク質であり、かつ、該標的タンパク質が L S Dに関連する；

(X I V) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質が、ファブリ病、ムコ多糖症 I 型、ファーバー病、ゴーシェ病、G M 1 ガングリオシドーシス、テイ・サックス病、サンドホフ病、G M 2 活性化因子疾患、クラッペ病、異染性白質ジストロフィー、ニーマン・ピック病、シャイエ病、ハンター病、サンフィリポ病、モルキオ病、マロトー・ラミー病、ヒアルロニダーゼ欠損症、アスパルチルグルコサミン尿症、フコシドーシス、マンノシドーシス、シンドラー病、シアリドーシス 1 型、ポンペ病、濃化異骨症、セロイドリポフスチン沈着症、コレステロールエステル貯蔵病、ウォルマン病、多種スルファターゼ欠損症、ガラクトシアリドーシス、ムコリピドーシス、シスチン症、シアル酸貯蔵病、マリネスコ・シェーグレン症候群を伴うカイロミクロン停滞病、ヘルマンスキー・ブドラック症候群、チェディアック・東症候群、ダノン病または幸福顔貌骨異形成症に関連する；

(X V) 該真菌細胞が、糖タンパク質である標的タンパク質をコードする核酸をさらに含み、かつ、該標的タンパク質がヒトタンパク質であり、かつ、該標的タンパク質が、ファブリ病、ムコ多糖症 I 型、ファーバー病、ゴーシェ病、G M 1 ガングリオシドーシス、テイ・サックス病、サンドホフ病、G M 2 活性化因子疾患、クラッペ病、異染性白質ジストロフィー、ニーマン・ピック病、シャイエ病、ハンター病、サンフィリポ病、モルキオ病、マロトー・ラミー病、ヒアルロニダーゼ欠損症、アスパルチルグルコサミン尿症、フコシドーシス、マンノシドーシス、シンドラー病、シアリドーシス 1 型、ポンペ病、濃化異骨症、セロイドリポフスチン沈着症、コレステロールエステル貯蔵病、ウォルマン病、多種スルファターゼ欠損症、ガラクトシアリドーシス、ムコリピドーシス、シスチン症、シアル酸貯蔵病、マリネスコ・シェーグレン症候群を伴うカイロミクロン停滞病、ヘルマンスキー・ブドラック症候群、チェディアック・東症候群、ダノン病または幸福顔貌骨異形成症に関連する；

(X V I) 該真菌細胞が、*Yarrowia lipolytica* または *Arxula adeninivorans* 細胞である；

(X V I I) 該真菌細胞が、マンノシルリン酸化を促進することのできるポリペプチドをコードする核酸をさらに含み、該ポリペプチドが、M N N 4 ポリペプチドである；

(X V I I I) 該真菌細胞が、マンノシルリン酸化を促進することのできるポリペプチドをコードする核酸をさらに含み、該ポリペプチドが、*Yarrowia lipolytica*、*S. cerevisiae*、*Ogataea minuta*、*Pichia pastoris* または *C. albicans* の M N N 4 ポリペプチドである；

(X I X) 該真菌細胞が、マンノシルリン酸化を促進することのできるポリペプチドをコードする核酸をさらに含み、該ポリペプチドが、*P. pastoris* P N O 1 ポリペプチドである；

(X X) 該マンノシダーゼが分泌シグナルを含む；

(X X I) 該マンノシダーゼが、該マンノシダーゼを細胞内区画にターゲティングするためのターゲティングシグナルを含む；

(X X I I) 該マンノシダーゼが、分泌シグナルおよび該マンノシダーゼを細胞内区画にターゲティングするためのターゲティングシグナルを含む；

(X X I I I) 該真菌細胞が、単離された形態にある。

【請求項 17】

Yarrowia lipolytica、*Pichia pastoris*、*Hansenula polymorpha*、*Arxula adeninivorans*、*Pichia methanolica*、*Oogataea minuta* または *Aspe*

rgiillus nigerの細胞の実質的に純粋な培養物であって、該細胞は、キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む糖タンパク質を生産するように遺伝的に操作されており、該細胞は、マンノース - 1 - ホスホ - 6 - マンノースをホスホ - 6 - マンノースに加水分解することのできるマンノシダーゼをコードする核酸を含み、ここで、該マンノシダーゼが、グリコシルヒドロラーゼファミリー 92 のメンバーであり、ここで、該マンノシダーゼが、アノマー酸素をプロトン化し得る触媒酸残基を含まない、培養物。

【請求項 18】

前記マンノシダーゼが請求項 2 ~ 7 のいずれか一項において規定されるものである、請求項 17 に記載の培養物。

【請求項 19】

以下に列挙した特徴のうちの 1 つ以上を有する、請求項 17 または 18 に記載の培養物：

(I) 前記細胞が、マンノシルリン酸化を促進することのできるポリペプチドをコードする核酸をさらに含む；

(II) 前記細胞が、OCH1 活性を欠損するように遺伝的に操作されている。

【請求項 20】

糖タンパク質であって、該糖タンパク質上の N - グリカンの少なくとも 47 % が、キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含み、該キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む該少なくとも 47 % の N - グリカンが、 $P_2 - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $(ManP)P - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $P - Man_7 GlcNAc_2$ および $PMan_8 GlcNAc_2$ から選択される、糖タンパク質。

【請求項 21】

前記糖タンパク質上の N - グリカンの少なくとも 50 % が、キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む請求項 20 に記載の糖タンパク質であって、該キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む該少なくとも 50 % の N - グリカンが、 $P_2 - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $(ManP)P - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $P - Man_7 GlcNAc_2$ および $PMan_8 GlcNAc_2$ から選択される、糖タンパク質。

【請求項 22】

前記糖タンパク質上の N - グリカンの少なくとも 75 % が、キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む請求項 20 に記載の糖タンパク質であって、該キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む該少なくとも 75 % の N - グリカンが、 $P_2 - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $(ManP)P - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $P - Man_7 GlcNAc_2$ および $PMan_8 GlcNAc_2$ から選択される、糖タンパク質。

【請求項 23】

前記糖タンパク質上の N - グリカンの少なくとも 90 % が、キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む請求項 20 に記載の糖タンパク質であって、該キャップ除去されたホスホ - 6 - マンノース残基を含む該少なくとも 90 % の N - グリカンが、 $P_2 - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $(ManP)P - Man_8 GlcNAc_2$ 、 $P - Man_7 GlcNAc_2$ および $PMan_8 GlcNAc_2$ から選択される、糖タンパク質。

【請求項 24】

単離された形態にある、請求項 20 ~ 23 のいずれか一項に記載の糖タンパク質。

【請求項 25】

マンノース - 1 - ホスホ - 6 - マンノース残基をホスホ - 6 - マンノースに加水分解することのできるマンノシダーゼポリペプチドであって、該マンノシダーゼは、グリコシルヒドロラーゼファミリー 92 のメンバーであり、ここで、該マンノシダーゼが、アノマー酸素をプロトン化し得る触媒酸残基を含まない、マンノシダーゼポリペプチド。

【請求項 26】

前記マンノシダーゼが請求項 2 ~ 7 のいずれか一項において規定されるものである、請求項 25 に記載のマンノシダーゼポリペプチド。

【請求項 27】

核酸であって、

(a) 請求項 25 または 26 に記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；または

(b) 該ヌクレオチド配列の相補体を含む、核酸。

【請求項 28】

請求項 25 または 26 に記載のポリペプチドをコードする請求項 27 に記載の核酸を含む発現ベクター。

【請求項 29】

請求項 28 に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 30】

ポリペプチドを作製する方法であって、請求項 29 に記載の宿主細胞を培養するステップと、該培養物から該ポリペプチドを単離するステップとを含む、方法。