



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108350400 B

(45) 授权公告日 2021.03.30

(21) 申请号 201680055144.4	(73) 专利权人 诺维信公司
(22) 申请日 2016.10.10	地址 丹麦鲍斯韦
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 108350400 A	(72) 发明人 K. 戈里
(43) 申请公布日 2018.07.31	(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
(30) 优先权数据 PA201500622 2015.10.09 DK	代理人 涂滔
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2018.03.22	(51) Int.Cl. C12N 15/55 (2006.01) C11D 3/386 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/EP2016/074171 2016.10.10	(56) 对比文件 CN 104114698 A, 2014.10.22
(87) PCT国际申请的公布数据 W02017/060518 EN 2017.04.13	审查员 吴舜

权利要求书1页 说明书48页
序列表9页

(54) 发明名称
衣物洗涤方法,多肽的用途和洗涤剂组合物

(57) 摘要
本发明涉及用于洗涤纺织品的方法,具有DNA酶活性的酶的用途和包含具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的酶的洗涤剂组合物。

1. 一种用于洗涤被生物膜和/或蛋白质污渍弄脏的纺织品的的方法,该方法包括以下步骤:

- a) 将纺织品与包含具有DNA酶活性的酶、蛋白酶和表面活性剂的洗液接触;以及
- b) 任选地冲洗该纺织品,

其中具有DNA酶活性的该酶和蛋白酶能够从纺织品减少和/或去除生物膜,

其中该蛋白酶是包含SEQ ID NO:8的以下取代Y161A+R164S+A188P的酶变体,并且该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO:8的成熟多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性,

其中该具有DNA酶活性的酶是真菌来源,并且与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的多肽具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中该蛋白酶是具有以下取代Y161A+R164S+A188P的SEQ ID NO:8的酶变体。

3. 具有DNA酶活性的酶和蛋白酶用于洗涤被生物膜和/或蛋白质污渍弄脏的纺织品的用途,其中该具有DNA酶活性的酶和蛋白酶在洗涤循环期间能够从纺织品减少和/或去除生物膜,

其中该蛋白酶是包含SEQ ID NO:8的以下取代Y161A+R164S+A188P的酶变体,并且该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO:8的成熟多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性,

其中该具有DNA酶活性的酶是真菌来源,并且与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的多肽具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性。

4. 根据权利要求3所述的用途,其中该纺织品包含至少20%聚酯。

5. 根据权利要求3或4所述的用途,其中防止和/或减少了再沉积。

6. 根据权利要求3或4所述的用途,其中该纺织品的白度得到改进。

7. 根据权利要求3或4所述的用途,其中在洗涤之后纺织品上存在的生物膜的量被减少。

8. 一种洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物包含具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的酶、蛋白酶、至少17% (w/w) 的阴离子表面活性剂和至少11% (w/w) 的非离子表面活性剂和助洗剂,

其中该蛋白酶是包含SEQ ID NO:8的以下取代Y161A+R164S+A188P的酶变体,并且该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO:8的成熟多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性,

其中该具有DNA酶活性的酶是真菌来源,并且与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的多肽具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性。

衣物洗涤方法,多肽的用途和洗涤剂组合物

[0001] 序列表的引用

[0002] 本申请含有一个计算机可读形式的序列表,将其通过引用结合在此。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于洗涤纺织品的方法,具有DNA酶活性的酶与蛋白酶一起的用途以及包含具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的酶和蛋白酶的洗涤剂组合物。

背景技术

[0004] 随时间流逝,衣物物品像男衬衫和女衬衫变得越来越灰,这已经是一个多年已知的问题。一些细菌能够粘附于纺织品(衣物)并且在该纺织品上形成生物膜。细菌的存在意味着,衣物物品变得粘稠,并且因此污垢粘附在粘稠区域上。这种污垢已经显示出难以通过可商购的洗涤剂组合物来去除。此外,当非常脏的衣物物品与不太脏的衣物物品一起洗涤时,洗液中存在的污物倾向于附着于生物膜上。其结果是,该衣物物品在洗涤之后比洗涤之前更“变脏”、更不白、并且更灰。

[0005] 国际专利申请号PCT/EP 2015/057883披露了一种洗涤方法,其中将真菌来源的DNA酶用于洗涤纺织品。

发明内容

[0006] 本发明涉及用于洗涤被生物膜和/或蛋白质污渍弄脏的纺织品的的方法,该方法包括以下步骤:

[0007] a) 将纺织品与包含具有DNA酶活性的酶、蛋白酶和表面活性剂的洗液接触; 以及

[0008] b) 任选地冲洗该纺织品,

[0009] 其中具有DNA酶活性的该酶和蛋白酶能够从纺织品减少和/或去除生物膜。

[0010] 本发明进一步涉及具有DNA酶活性的酶和蛋白酶用于洗涤被生物膜和/或蛋白质污渍弄脏的纺织品的用途,其中该具有DNA酶活性的酶和蛋白酶在洗涤循环期间能够从纺织品减少和/或去除生物膜。此外,本发明涉及包含具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的酶、蛋白酶、至少17% (w/w) 的阴离子表面活性剂和至少11% (w/w) 的非离子表面活性剂以及助洗剂的洗涤剂组合物。

[0011] 定义

[0012] 细菌的: 在本发明的上下文中,术语关于多肽(如酶,例如,DNA酶)的“细菌的”是指由细菌基因组编码并且因此可直接从细菌基因组衍生的多肽,其中这种细菌未经过遗传修饰来编码所述多肽,例如,通过重组DNA技术将编码序列引入基因组中。因此,在本发明的上下文中,术语“细菌DNA酶”或“获得自细菌来源的具有DNA酶活性的多肽”或“细菌来源的多肽”是指由细菌物种的基因组编码并且因此直接从细菌物种的基因组可衍生的DNA酶,其中该细菌物种未经受通过引入编码所述DNA酶的重组DNA进行的遗传修饰。因此,编码具有DNA酶活性的细菌多肽的核苷酸序列是天然在细菌物种遗传背景中的序列。由这种

序列编码的具有DNA酶活性的细菌多肽还可以是指野生型DNA酶(或亲本DNA酶)。在另一个方面,本发明提供了具有DNA酶活性的多肽,其中所述多肽与细菌DNA酶基本上同源。在本发明的上下文中,术语“基本上同源”表示具有DNA酶活性的多肽,该多肽与所选择的细菌DNA酶的氨基酸序列具有至少80%,优选地至少85%,更优选地至少90%,更优选地至少95%,甚至更优选地至少96%、97%、98%,以及最优选地至少99%的一致性。

[0013] **生物膜**:生物膜是其中细胞彼此粘附在一起或粘附至表面(例如纺织品、餐具或硬表面)或另一种表面的任何群组的微生物。这些粘附细胞经常包埋在胞外高聚物(EPS)的自身产生的基质内。生物膜EPS是一般由细胞外的DNA、蛋白、和多糖组成的聚合物团块。生物膜可以形成在活的或非活的表面上。在生物膜中生长的微生物细胞与同一有机体的浮游细胞(相比之下,浮游细胞是可以在液体培养基中漂浮或浮游的单个细胞)在生理上是不同的。

[0014] 生活在生物膜中的细菌通常与同一物种的浮游细菌具有显著不同的特性,因为膜的密集并且受保护的环境允许它们以不同方式协作和相互作用。这一环境的一个益处是增加对洗涤剂和抗生素的抗性,因为,密集的细胞外基质和细胞的外层保护群落的内部。

[0015] 在衣物上,会发现产生生物膜的细菌是在以下物种中:不动杆菌属物种、气微菌属物种、短波单胞菌属物种、微杆菌属物种、滕黄微球菌、假单胞菌属物种、表皮葡萄球菌、和寡养单胞菌属物种。

[0016] **编码序列**:术语“编码序列”意指直接指定多肽的氨基酸序列的多核苷酸。编码序列的边界一般由开放阅读框架确定,该开放阅读框架以起始密码子(如ATG、GTG或TTG)开始并且以终止密码子(如TAA、TAG或TGA)结束。编码序列可以是基因组DNA、cDNA、合成DNA或其组合。

[0017] **洗涤剂组分**:在此将术语“洗涤剂组分”定义为意指可以用于洗涤剂组合物中的化学品的类型。洗涤剂组分的实例是碱、表面活性剂、助水溶剂、助洗剂、共助洗剂、螯合剂(chelator)或螯合试剂(chelating agent)、漂白系统或漂白组分、聚合物、织物调色剂、织物调理剂、增泡剂、抑泡剂、分散剂、染料转移抑制剂、荧光增白剂、香料、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、污垢释放聚合物、抗再沉积剂、酶抑制剂或稳定剂、酶活化剂、抗氧化剂以及增溶剂。

[0018] **洗涤剂组合物**:术语“洗涤剂组合物”是指用于从有待清洁的纺织品(如纺织品)去除不希望的化合物的组合物。该洗涤剂组合物可以用于例如清洁纺织品,用于家用清洁和工业清洁二者。这些术语涵盖选择用于希望的具体类型的清洁组合物和产品的形式(例如、液体、凝胶、粉末、颗粒、糊状、或喷雾组合物)的任何材料/化合物,并且包括但不限于洗涤剂组合物(例如,液体和/或固体衣物洗涤剂和精细织物洗涤剂;织物清新剂;织物柔软剂;以及纺织品和衣物预去污剂/预处理)。除了含有本发明的酶之外,该洗涤剂配制品还可以含有一种或多种另外的酶(例如蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、角质酶、纤维素酶、内切葡聚糖酶、木葡聚糖酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶以及甘露聚糖酶,或其任何混合物),和/或洗涤剂组分,例如表面活性剂、助洗剂、螯合剂或螯合试剂、漂白系统或漂白组分、聚合物、织物调理剂、增泡剂、抑泡剂、染料、香料、酶暗抑制剂、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、防腐剂、酶抑制剂或稳定剂、酶活化剂、一种或多种转移酶、水解酶、氧化还原酶、上蓝剂和荧光染料、抗氧化剂以及增

溶剂。

[0019] DNA酶:术语“DNA酶”意指具有DNA酶活性的多肽/酶,该多肽/酶催化DNA主链中的磷酸二酯键的水解断裂,从而降解DNA。出于本发明的目的,根据测定I中所描述的程序确定DNA酶活性。在本发明的一个实施例中,参照SEQ ID NO:1的成熟多肽的DNA酶活性,多肽的DNA酶活性是至少105%,例如至少110%、至少120%、至少130%、至少140%、至少160%、至少170%、至少180%、或至少200%,该多肽具有包含SEQ ID NO:2中所阐明的序列或由其组成的酶,包含SEQ ID NO:3中所阐明的序列或由其组成的酶,包含SEQ ID NO:4的成熟多肽或由其组成的酶,包含SEQ ID NO:5的成熟多肽或由其组成的酶或包含SEQ ID NO:6的成熟多肽或由其组成的酶。

[0020] 酶洗涤益处:在此将术语“酶洗涤益处”定义为将一种酶添加至洗涤剂中与不具有该酶的另一洗涤剂相比的有利效果。可能由酶提供的重要洗涤益处是污渍去除伴随在洗涤和/或清洁之后无可见污垢或污垢非常少、阻止或减少在洗涤过程中释放的污垢再沉积(又称作抗再沉积的作用)、完全或部分地恢复纺织品的白度(又称作增白的作用),其中所述纺织品最初是白色的,但是在反复使用和洗涤后获得淡灰或淡黄色外观。不直接与污垢的催化去污或其再沉积的预防相关的纺织品护理益处对于酶洗涤益处而言也是重要的。此类纺织品护理益处的实例是预防或减少染料从一织物转移至另一织物或同一织物的另一部分(一种也被称作染料转移抑制或抗返染的效果),从织物表面去除突出或断裂的纤维以减少起球倾向或去除已经存在的绒球或绒毛(一种也被称作抗起球的效果),改进织物柔软性,织物的颜色澄清以及去除陷在织物或服装的纤维中的微粒状污垢。酶漂白是一种另外的酶洗涤益处,其中通常将催化活性用于催化漂白组分(如过氧化氢或其他过氧化物)的形成。

[0021] 真菌的:在本发明的上下文中,术语关于多肽(如酶,例如,DNA酶)的“真菌的”是指由真菌基因组编码并且因此可直接从真菌基因组衍生的多肽,其中这种真菌未经过遗传修饰来编码所述多肽,例如,通过重组DNA技术将编码序列引入基因组中。因此,在本发明的上下文中,术语“真菌DNA酶”或“获得自真菌来源的具有DNA酶活性的多肽”或“真菌来源的多肽”是指由真菌基因组编码并且因此直接从真菌基因组衍生的DNA酶,其中该真菌物种未经受通过引入编码所述DNA酶的重组DNA进行的遗传修饰。因此,编码具有DNA酶活性的真菌多肽的核苷酸序列是真菌物种遗传背景中的天然序列。由这种序列编码的具有DNA酶活性的真菌多肽还可以是指野生型DNA酶(或亲本DNA酶)。在另一个方面,本发明提供了具有DNA酶活性的多肽,其中所述多肽与真菌DNA酶基本上同源。在本发明的上下文中,术语“基本上同源”表示一种具有DNA酶活性的多肽,该多肽与所选择的真菌DNA酶的氨基酸序列具有至少80%,优选地至少85%,更优选地至少90%,更优选地至少95%,甚至更优选地至少96%、97%、98%,以及最优选地至少99%的一致性。

[0022] 宿主细胞:术语“宿主细胞”意指易于用包含本发明的多核苷酸的核酸构建体或表达载体转化、转染、转导等的任何细胞类型。术语“宿主细胞”涵盖由于复制期间发生的突变而与亲本细胞不一致的亲本细胞的任何后代。

[0023] 分离的:术语“分离的”意指处于自然界中不存在的形式或环境中的物质。分离的物质的非限制性实例包括(1)任何非天然存在的物质,(2)包括但不限于任何酶、变体、核酸、蛋白质、肽或辅因子的任何物质,该物质至少部分地从与其本质相关的一种或多种或

所有天然存在的成分中去除；(3) 相对于天然发现的物质通过人工修饰的任何物质；或(4) 通过相对于与其天然相关的其他组分，增加物质的量而修饰的任何物质(例如宿主细胞中的重组产生；编码该物质的基因的多个拷贝；以及使用比与编码该物质的基因天然相关的启动子更强的启动子)。分离的物质可以存在于发酵液样品中。例如宿主细胞可以被遗传修饰以表达本发明的多肽。来自宿主细胞的发酵液将包含分离的多肽。

[0024] 洗涤：术语“洗涤”涉及家用洗涤和工业洗涤二者并且意指用含有本发明的清洁或洗涤剂组合物的溶液处理纺织品的过程。洗衣过程可以例如使用例如家用或工业洗衣机进行或可以手动进行。

[0025] 成熟多肽：术语“成熟多肽”意指在翻译和任何翻译后修饰如N-末端加工、C-末端截短、糖基化作用、磷酸化作用等之后处于其最终形式的多肽。在一个实施例中，成熟多肽是SEQ ID NO:1的氨基酸38至243，并且SEQ ID NO:1的氨基酸1至22是信号肽，并且SEQ ID NO:1的氨基酸23至37是前肽。本领域已知，宿主细胞可以产生由同一多核苷酸表达的两种或更多种不同成熟多肽(即，具有不同C-末端和/或N-末端氨基酸)的混合物。本领域还已知，不同的宿主细胞不同地加工多肽，且因此一个表达多核苷酸的宿主细胞当与另一个表达相同多核苷酸的宿主细胞相比时可产生不同的成熟多肽(例如，具有不同的C-末端和/或N-末端氨基酸)。在一个实施例中，成熟多肽含有SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2(例如SEQ ID NO:1的氨基酸38至243或SEQ ID NO:2的氨基酸1至206或SEQ ID NO:3的氨基酸1至204)中所阐明的序列的高达206个(如204个)连续氨基酸残基，或高达204个氨基酸残基(例如，SEQ ID NO:1的氨基酸40至243)。在另一个实施例中，该成熟多肽由SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3中所阐明的氨基酸序列组成。在又一个实施例中，该成熟多肽包含SEQ ID NO:4的连续氨基酸残基18至205或由其组成。在一个实施例中，该成熟多肽包含SEQ ID NO:5的连续氨基酸残基34至142或由其组成。在一个实施例中，该成熟多肽包含SEQ ID NO:6的连续氨基酸残基27至136或由其组成。

[0026] 核酸构建体：术语“核酸构建体”意指单-链或双链的核酸分子，该核酸分子是从天然存在的基因中分离的，或以本来不存在于自然界中的方式被修饰成含有核酸的区段，或是合成的，该核酸分子包含一个或多个控制序列。

[0027] 纺织品：术语“纺织品”意指包括纱线、纱线中间体、纤维、非机织材料、天然材料、合成材料、以及任何其他纺织品材料的任何纺织品材料，这些材料制造的织物和由这些织物制成的产品(例如服装和其他物品)。该纺织品或织物可以处于针织品、机织物、牛仔布、非机织物、毡、纱线、以及毛巾布的形式。这些纺织品可以是基于纤维素的，如天然纤维素，包括棉、亚麻/亚麻布、黄麻、苧麻、剑麻或椰壳纤维或者人造纤维素(例如，来源于木浆)，包括纤维胶/人造丝、乙酸纤维素纤维(三胞)、莱赛尔纤维(lyocell)或其共混物。纺织品或织物也可以不基于纤维素，如天然聚酰胺，包括羊毛、驼毛、羊绒、马海毛、兔毛和蚕丝或合成聚合物如尼龙、芳族聚酰胺、聚酯、丙烯酸、聚丙烯和氨纶/弹性纤维(spandex/elastane)、或其共混物其以及基于纤维素和不基于纤维素的纤维的共混物。共混物的实例是棉和/或人造丝/纤维胶与一种或多种伴随材料的共混物，该伴随材料如羊毛、合成纤维(例如聚酰胺纤维、丙烯酸纤维、聚酯纤维、聚氯乙烯纤维、聚氨酯纤维、聚脲纤维、芳族聚酰胺纤维)和/或含纤维素的纤维(例如人造丝/纤维胶、苧麻、亚麻/亚麻布、黄麻、乙酸纤维素纤维、莱赛尔纤维)。织物可以是常规的可洗涤衣物，例如染污的家居衣物。当使用

术语织物或服装时,旨在也包括广义术语纺织品。在本发明的上下文中,术语“纺织品”还包括织物。

[0028] 变体:术语“变体”意指在一个或多个(例如,若干个)位置包括改变(即,取代、插入和/或缺失)的与亲本酶具有相同活性的多肽/酶。取代意指用不同氨基酸替换占据位置的氨基酸;缺失意指去除占据某一位置的氨基酸;并且插入意指在邻接并且紧随占据位置的氨基酸之后添加氨基酸。在本发明的上下文中,所鉴别的DNA酶的变体具有亲本的酶活性,即,催化DNA主链中的磷酸二酯键水解断裂的能力(脱氧核糖核酸酶活性)。在一个实施例中,参照亲本DNA酶,变体的脱氧核糖核酸酶活性是增加的,例如具有脱氧核糖核酸酶活性的酶的成熟多肽选自下组,该组由以下组成:包含SEQ ID NO:1的成熟多肽或由其组成的酶、包含SEQ ID NO:2中所阐明的序列或由其组成的酶、包含SEQ ID NO:3中所阐明的序列或由其组成的酶、包含SEQ ID NO:4的成熟多肽或由其组成的酶、包含SEQ ID NO:5的成熟多肽或由其组成的酶或包含SEQ ID NO:6的成熟多肽或由其组成的酶。

[0029] 洗液:术语“洗液”旨在意指水和至少一种表面活性剂的溶液或混合物,任选地包括其他洗涤剂组分,例如除了具有DNA酶活性的酶之外并用于洗涤纺织品的酶。

[0030] 洗涤性能:测量洗涤性能的一种方式是在 Δ 酶性能值(Δ Rem酶值):在此将术语“ Δ 酶反射值”定义为在460nm处的反射比或反射测量值的结果。用一种具有类似颜色的小块布样,优选来自重复洗涤的小块布样作为背景测量该小块布样。在洗涤之前,测量代表每种小块布样类型的小块布样。 Δ 酶反射是在存在酶的洗涤剂中洗涤的小块布样的反射值减去在不存在酶的洗涤剂中洗涤的类似小块布样的反射值。

[0031] 另一种测量洗涤性能的方法是通过使用色差(L值):Lab色彩空间是针对明度具有尺寸L的色彩对立空间。L值,L*代表在L*=0下的最暗的黑色,并且为在L*=100下的最亮的白色。在本发明的上下文中,L值还称为色差。

[0032] 发明详细说明

[0033] 本发明人出人意料地发现,用具有DNA酶活性的酶与蛋白酶组合来洗涤纺织品在减少/去除生物膜、保持白度和减少污垢的再沉积方面给出出人意料的好的结果。这些效果在包含聚酯和棉的共混物的纺织品上更为显著。

[0034] 聚酯和棉是常用于纺织品如服装的材料。也常用聚酯与其他材料的共混物。因此,重要的是适用于这些纺织品的洗涤剂组合物可在市场上获得。

[0035] 本发明的方法是用于洗涤被生物膜和/或蛋白质污渍弄脏的纺织品的的方法,该方法包括以下步骤:

[0036] a) 将纺织品与包含具有DNA酶活性的酶、蛋白酶和表面活性剂的洗液接触; 以及

[0037] b) 任选地冲洗该纺织品,

[0038] 其中具有DNA酶活性的该酶和蛋白酶能够从纺织品减少和/或去除生物膜。

[0039] 洗涤性能可以如测定II中所述通过测量反射值来评估。用本发明的方法和/或组合物,其中具有DNA酶活性的酶与蛋白酶一起使用,纺织品的白度改进。当将酶组合用于包含棉和聚酯的纺织品时,该白度甚至进一步改进(实例1)。

[0040] 此外,当将具有DNA酶活性的酶与蛋白酶一起使用时,本发明人发现存在于纺织品上的生物膜的量减少。当存在蛋白酶比没有蛋白酶时,DNA酶对生物膜的作用甚至较高。此作用在包含棉和聚酯二者的纺织品上也是更显著的。

[0041] 会发现存在于衣物纺织品上的生物膜是在许多物种,例如以下物种中:不动杆菌属物种、气微菌属物种、短波单胞菌属物种、微杆菌属物种、膝黄微球菌、假单胞菌属物种、表皮葡萄球菌、和寡养单胞菌属物种及其他物种。发明人发现短波单胞菌属物种生产的生物膜从包含聚酯的纺织品中比从没有聚酯的纺织品中更大程度去除。当将DNA酶与蛋白酶一起添加时,该作用甚至是更显著的。在本发明的一个实施例中,有待洗涤的纺织品上存在的生物膜包含来自短波单胞菌属例如连同其他生物膜形成物种的生物膜。

[0042] 洗液中酶的浓度典型地在以下范围内:0.00004-100ppm酶蛋白,如在0.00008-100范围内、在0.0001-100范围内、在0.0002-100范围内、在0.0004-100范围内、在0.0008-100范围内、在0.001-100ppm酶蛋白的范围内、0.01-100ppm酶蛋白,优选地0.05-50ppm酶蛋白,更优选地0.1-50ppm酶蛋白,更优选地0.1-30ppm酶蛋白,更优选地0.5-20ppm酶蛋白,并且最优选地0.5-10ppm酶蛋白。

[0043] 通常与洗涤衣物纺织品相关的一个问题是再沉积,其中在洗涤过程中粘附到衣物纺织品的污垢从纺织品中释放,并再沉积在另一衣物纺织品上或同一纺织品的另一区域中。本发明防止和/或减少污垢在纺织品上再沉积。

[0044] 在本发明的一个实施例中,使用包含具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的酶、蛋白酶、至少17%(w/w)的阴离子表面活性剂和至少11%(w/w)的非离子表面活性剂和助洗剂的新的洗涤剂组合物。

[0045] 本发明的一个实施例涉及洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物包含:(a)一种或多种具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的酶,(b)一种或多种蛋白酶,以及任选地(c)至少5%,如至少10%、至少15%、至少20%(w/w)的一种或多种阴离子表面活性剂和/或,任选地(d)至少5%,如至少10%、至少15%、至少20%(w/w)的一种或多种非离子表面活性剂和/或任选地至少10%,如至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%或至少45%(w/w)的一种或多种助洗剂。

[0046] 该非离子表面活性剂可以选自下组,该组由以下组成:醇乙氧基化物(AE或AEO)、醇丙氧基化物、丙氧基化的脂肪醇(PFA)、烷氧基化的脂肪酸烷基酯(例如乙氧基化的和/或丙氧基化的脂肪酸烷基酯)、烷基酚乙氧基化物(APE)、壬基酚乙氧基化物(NPE)、烷基多糖苷(APG)、烷氧基化胺、脂肪酸单乙醇酰胺(FAM)、脂肪酸二乙醇酰胺(FADA)、乙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(EFAM)、丙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(PFAM)、多羟基烷基脂肪酸酰胺、和葡萄糖胺的N-酰基N-烷基衍生物(葡糖酰胺(GA)、或脂肪酸葡糖酰胺(FAGA))。

[0047] 该洗涤剂组合物进一步包含选自下组的阴离子表面活性剂,该组由以下组成:硫酸盐和磺酸盐,如直链烷基苯磺酸盐(LAS)、LAS的异构体、支链烷基苯磺酸盐(BABS)、苯基链烷磺酸盐、 α -烯炔磺酸盐(AOS)、烯炔磺酸盐、链烯炔磺酸盐、链烷-2,3-二基双(硫酸盐)、羟基链烷磺酸盐以及二磺酸盐、烷基硫酸盐(AS)(如十二烷基硫酸钠(SDS))、脂肪醇硫酸盐(FAS)、伯醇硫酸盐(PAS)、醇醚硫酸盐(AES或AEOS或FES,也被称为醇乙氧基硫酸盐或脂肪醇醚硫酸盐)、仲链烷磺酸盐(SAS)、石蜡炔磺酸盐(PS)、酯磺酸盐、磺化的脂肪酸甘油酯、 α -磺酸基脂肪酸甲酯(α -SFMe或SES)(包括甲酯磺酸盐(MES))、烷基琥珀酸或烯基琥珀酸、十二烯基/十四烯基琥珀酸(DTSA)、氨基酸的脂肪酸衍生物、磺酸基琥珀酸或脂肪酸盐(皂)的二酯和单酯及其组合。

[0048] 在优选的实施例中,该洗涤剂组合物包含选自下组的表面活性剂,该组由以下组

成:直链烷基苯磺酸盐(LAS)、 α -烯烴磺酸盐(AOS)和烷基硫酸盐(AS)。

[0049] 根据本发明所使用的洗涤剂组合物或洗液可以进一步包含选自下组的一种或多种酶,该组由以下组成:半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂加氧酶、木质酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、聚戊糖酶、马拉纳酶、 β -葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、叶绿素酶、淀粉酶、过水解酶、过氧化物酶和黄原胶酶。

[0050] 在洗涤剂组合物中,具有DNA酶活性的酶应该以一定量存在,该量对应于每克洗涤剂组合物至少0.002mg的酶,如至少0.004mg的酶、至少0.006mg的酶、至少0.008mg的酶、至少0.01mg的酶、至少0.1mg的蛋白质、至少1mg的蛋白质、至少10mg的蛋白质、至少20mg的蛋白质、至少30mg的蛋白质、至少40mg的蛋白质、至少50mg的蛋白质、至少60mg的蛋白质、至少70mg的蛋白质、至少80mg的蛋白质、至少90mg的蛋白质、至少100mg的蛋白质,如在每克洗涤剂组合物80 mg-100mg的蛋白质的范围内。因此,该洗涤剂组合物可以包含至少0.00008%酶,优选地至少0.002%、0.003%、0.004%、0.005%、0.006%、0.008%、0.01%、0.02%、0.03%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%或1.0%的酶。

[0051] 在一个实施例中,本发明涉及根据本发明所述的与一种或多种另外的洗涤剂组分的组合的洗涤剂组合物。另外的组分的选择处于技术人员的能力范围内并且包括常规的成分,包括下文所述的示例性非限制性组分。

[0052] 该蛋白酶可以选自下组,该组由以下组成:多种蛋白酶,其中该蛋白酶

[0053] a) 是酶变体,该酶变体在对应于SEQ ID NO:7的成熟多肽的位置9、15、43、68、76、99、101、167、170、194、205、206、209、217、218、222、245、261和262的一个或多个位置处包含改变,其中每个改变独立地是取代、缺失或插入,并且该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0054] b) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:8的氨基酸序列;

[0055] c) 是酶变体,该酶变体包含选自SEQ ID NO:8的成熟多肽的S85N的取代,其中该变体具有蛋白酶活性;或

[0056] d) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

[0057] 在一个实施例中,该酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:SEQ ID NO:7的S9E、S9R、A15T、V68A、N76D、S99G、S99A、S101E、S101N、Y167A、R170S、A194P、V205I、Q206L、Y209W、L217D、L217Q、N218D、M222S、Q245R、N261W、L262E Y167A+R170S+A194P、S99SE和 S9R+A15T+V68A+N218D+Q245R,其中该酶变体与显示在SEQ ID NO:7中的多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性。在本发明的优选实施例中,酶变体包含以下取代:SEQ ID NO:7的Y167A+R170S+A194P。

[0058] 在一个实施例中,该蛋白酶是蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于SEQ ID NO:7的位置对应9、15、43、68、76、99、101、167、170、194、205、206、209、217、218、222、245、261和262的一个或多个位置处包含改变,其中每个改变独立地是取代、缺失或插入,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与显示在SEQ ID NO:8中的多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性。

[0059] 在一个实施例中,该蛋白酶是蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或

多个取代,该组由以下组成:S9E、S9R、A15T、V68A、N76D、S99G、S99A、S101E、S101N、Y167A、R170S、A194P、V205I、Q206L、Y209W、L217D、L217Q、N218D、M222S、Q245R、N261W、L262E、Y167A+R170S+A194P、S99SE和 S9R+A15T+V68A+N218D+Q245R,其中这些位置对应于SEQ ID NO:7的位置,并且其中该变体与显示在SEQ ID NO:8中的多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性。改变S99SE意指在位置99(对应于SEQ ID NO 7中的99)之后插入氨基酸Glu(E)。在本发明中,根据如以下描述的SEQ ID NO 7编号这些位置。

[0060] 在本发明的优选的实施例中,该酶变体包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶与SEQ ID NO 8具有至少80%的序列一致性。

[0061] 该蛋白酶优选地是显示在SEQ ID NO 8中的迟缓芽孢杆菌蛋白酶的变体或显示在SEQ ID NO 7中的解淀粉芽孢杆菌蛋白酶的变体。这些蛋白酶变体优选地与SEQ ID NO 8或SEQ ID NO 7具有至少80%的序列一致性。

[0062] 与本发明的DNA酶一起使用的该蛋白酶也可以是蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中所述蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性。

[0063] 与本发明的DNA酶组合使用的该蛋白酶也可以是显示在SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8中的蛋白酶的变体。在本发明的一个方面,该蛋白酶变体在选自以下列表的一个或多个位置处包含改变,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261和262,其中这些位置对应于SEQ ID NO 7中的位置。优选地,在一个或多个位置的该改变选自X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]和X262[E,D],其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,其中该变体与显示在SEQ ID NO:8中的多肽或显示在SEQ ID NO 7中的多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性。括号内的氨基酸是可替代的。与前体(即亲本蛋白酶)相比,本发明的蛋白酶优选地包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

[0064] (a) X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,

[0065] (b) X9R+X15T+X68A+X245R,

[0066] (c) X61E+X194P+X205I+X261D,

[0067] (d) X61D+X205I+X245R,

[0068] (e) X61E+X194P+X205I+X261D,

[0069] (f) X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0070] (g) X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0071] (h) X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,

[0072] (i) X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,

- [0073] (j) X103A+X104I,
[0074] (k) X22R+X101G+X232V+X245R,
[0075] (l) X103A+X104I+X156D,
[0076] (m) X103A+X104I+X261E,
[0077] (n) X62D+X245R,
[0078] (o) X101N+X128A+X217Q,
[0079] (p) X101E+X217Q,
[0080] (q) X101E+X217D,
[0081] (r) X9E+X43R+X262E,
[0082] (s) X76D+X43R+X209W,
[0083] (t) X205I+X206L+X209W,
[0084] (u) X185E+X188E+X205I,
[0085] (v) X256D+X261W+X262E,
[0086] (w) X191N+X209W,
[0087] (x) X261E+X262E,
[0088] (y) X261E+X262D, 和
[0089] (z) X167A+X170S+X194P,

[0090] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该变体与显示在SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO 8中的多肽或显示在SEQ ID NO 9中的多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性。

[0091] X代表存在于亲本中的氨基酸,取决于选择的亲本,其可以是任何氨基酸。该蛋白酶变体可以包含列于(a)至(z)中的取代组的任何组合。取代组意指在本上下文中该蛋白酶至少包含在组例如X9R+X15T+X68A+X218D+X245R中的取代。本领域技术人员将清楚,该蛋白酶可以包含另外的取代;优选地,该蛋白酶变体与亲本(例如序列SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8或SEQ ID NO 9的任一种)具有至少80%的序列一致性。

[0092] 蛋白酶变体中氨基酸位置/残基的编号

[0093] 如果没有提及,则本文中使用的氨基酸编号对应于枯草杆菌酶BPN'(BASBPN)序列的编号。对于进一步描述BPN'序列,参见SEQ ID NO:2或Siezen 等人,Protein Engng[蛋白质工程]4(1991)719-737。

[0094] 在本申请的上下文中,取代有时在对应于显示在SEQ ID NO 7中的多肽的位置的位置处用存在于显示在SEQ ID NO 8中的蛋白酶的氨基酸表示。不同亲本蛋白酶适合使变体适合与DNA酶一起用于获得本发明中描述的有益效果,例如,提高生物膜的减少。本领域技术人员将清楚,如果变体是由除SEQ ID NO 8之外的另一种亲本制备,则氨基酸取代,即之前的氨基酸可以与SEQ ID NO 8中的氨基酸不同。这可以由表示任何氨基酸的X来表示,表明该位置处的任何原始氨基酸可以被取代。例如,X9E 意指除E以外的在位置9处的任何氨基酸残基被E取代。

[0095] 在本发明的一个实施例中,该蛋白酶与SEQ ID NO:8具有100%的一致性。在本发明的一个实施例中,该蛋白酶与SEQ ID NO:7具有100%的一致性。

[0096] 具有DNA酶活性的酶或脱氧核糖核酸酶(DNA酶)是催化DNA骨架中的磷酸二酯键

的水解切割从而降解DNA的任何酶。术语具有DNA酶活性的多肽、具有DNA 酶活性的酶和DNA酶互换地使用。

[0097] 根据本发明,可以使用从细菌或真菌来源获得的DNA酶。在这些实例中,使用 可获得自真菌的DNA酶。特别地,优选的是可获得自曲霉菌属的DNA酶;特别地, 优选的是可获得自米曲霉的DNA酶;在本发明的一个实施例中,具有脱氧核糖核酸 酶活性的酶不是来自米曲霉的S1核酸酶。

[0098] 本发明中使用的DNA酶优选包括示为SEQ ID NO:1的氨基酸38至243的SEQ ID NO: 2的成熟多肽,其获得自米曲霉。具有DNA酶活性的酶可以获得自曲霉属, 例如获得自米曲霉。

[0099] 本发明的一个方面涉及与SEQ ID NO:1成熟多肽具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至 少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100% 的序列一致性的分离的酶,这些分离的酶具有DNA酶活性。在一个方面,这些酶与 SEQ ID NO:1的成熟多肽相差多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸。

[0100] 本发明中使用的DNA酶包括示为SEQ ID NO:2的氨基酸38至243的SEQ ID NO: 2的成熟多肽,其获得自米曲霉。具有DNA酶活性的酶可以获得自曲霉属,例如获 得自米曲霉。在本发明的一个实施例中,具有DNA酶活性的酶是要求保护的多肽。

[0101] 本发明的一个方面涉及与SEQ ID NO:2成熟多肽具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至 少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100% 的序列一致性的分离的多肽,这些分离的多肽具有DNA酶活性。在一个方面,这些 酶与SEQ ID NO:2的成熟多肽相差多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸。

[0102] 本发明中使用的DNA酶包括示为SEQ ID NO:3的氨基酸1至204的SEQ ID NO: 3的成熟多肽,其获得自米曲霉。具有DNA酶活性的酶可以获得自曲霉属,例如获 得自米曲霉。在本发明的一个实施例中,具有DNA酶活性的酶是要求保护的多肽。

[0103] 在一个实施例中,本发明涉及与SEQ ID NO:3成熟多肽具有至少60%,例如至 少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少 92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致 性的分离的多肽,这些分离的多肽具有DNA酶活性。在一个方 面,这些多肽与SEQ ID NO:3 的成熟多肽相差多达10个(例如1个、2个、3个、4 个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基 酸。

[0104] 本发明中使用的DNA酶包括示为SEQ ID NO:4的氨基酸18至205的SEQ ID NO: 4的成熟多肽,其获得自哈茨木霉。具有DNA酶活性的酶可以获得自木霉属,例如, 哈茨木霉。在本发明的一个实施例中,具有DNA酶活性的酶是要求保护的多肽。

[0105] 在一个实施例中,本发明涉及与SEQ ID NO:4成熟多肽具有至少60%,例如至 少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少 92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致 性的分离的酶,这些分离的酶具有DNA酶活性。在一个方面, 这些多肽与SEQ ID NO:4的成 熟多肽相差多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸。

[0106] 本发明中使用的DNA酶包括示为SEQ ID NO:5的氨基酸34至142的SEQ ID NO: 5的成熟多肽,其获得自地衣芽孢杆菌。具有DNA酶活性的酶可以获得自芽孢杆菌属,例如获得自地衣芽孢杆菌。在本发明的一个实施例中,具有DNA酶活性的酶是要求保护的多肽。

[0107] 在一个实施例中,本发明涉及与SEQ ID NO:5成熟多肽具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的分离的多肽,这些分离的多肽具有DNA酶活性。在一个方面,这些多肽与SEQ ID NO:5的成熟多肽相差多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸。

[0108] 本发明中使用的DNA酶包括示为SEQ ID NO:6的氨基酸27至136的SEQ ID NO: 6的成熟多肽,其获得自枯草芽孢杆菌。具有DNA酶活性的酶可以获得自芽孢杆菌属,例如获得枯草芽孢杆菌。在本发明的一个实施例中,具有DNA酶活性的酶是要求保护的多肽。

[0109] 在一个实施例中,本发明涉及与SEQ ID NO:6成熟多肽具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的分离的多肽,这些分离的多肽具有DNA酶活性。在一个方面,这些多肽与SEQ ID NO:6的成熟多肽相差多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸。

[0110] 本发明的酶优选地包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成;或为具有DNA酶活性的其片段。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:1的成熟多肽或由其组成。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:1的氨基酸38至243或由其组成。

[0111] 本发明的酶优选地包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成;或为具有DNA酶活性的其片段。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:2的成熟多肽或由其组成。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:2的氨基酸1至206或由其组成。

[0112] 本发明的酶优选地包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成;或为具有DNA酶活性的其片段。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:3的成熟多肽或由其组成。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:3的氨基酸1至204或由其组成。

[0113] 本发明的酶优选地包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成;或为具有DNA酶活性的其片段。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:4的成熟多肽或由其组成。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:4的氨基酸18至205或由其组成。

[0114] 本发明的酶优选地包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成;或为具有DNA酶活性的其片段。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:5的成熟多肽或由其组成。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:5的氨基酸38至240或由其组成。

[0115] 本发明的酶优选地包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成;或为具有DNA酶活性的其片段。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:6的成熟多肽或由其组成。在另一个方面,该多肽包含SEQ ID NO:6的氨基酸27至136或由其组成。

[0116] 在本发明的一个实施例中,该具有DNA酶活性的酶与SEQ ID NO:1的多肽具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶是包含SEQ ID NO:7的以下取代Y167A+R170S+A194P的酶变体。

[0117] 在本发明的一个实施例中,该具有DNA酶活性的酶与显示在SEQ ID NO:1中的多肽具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶选自下组,该组由以下组成:

[0118] (a) 蛋白酶,该蛋白酶包含显示在SEQ ID NO:8中的氨基酸序列或包含显示在SEQ ID NO 7中的氨基酸序列;

[0119] (b) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含取代S87N,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0120] (c) 蛋白酶,该蛋白酶包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;

[0121] (d) 蛋白酶,该蛋白酶包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0122] (e) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性;

[0123] (f) 蛋白酶变体,其中该变体优选地在选自以下列表的一个或多个位置处包含修饰,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261 和262,其中该变体具有蛋白酶活性并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0124] (g) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]和X262[E,D],其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;以及

[0125] (h) 蛋白酶,与前体(即亲本蛋白酶)相比,该蛋白酶包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

[0126] i. X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,

[0127] ii. X9R+X15T+X68A+X245R,

[0128] iii. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0129] iv. X61D+X205I+X245R,

[0130] v. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0131] vi. X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0132] vii. X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0133] viii. X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,

[0134] ix.X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,

[0135] x.X103A+X104I,

[0136] xi.X22R+X101G+X232V+X245R,

[0137] xii.X103A+X104I+X156D,

[0138] xiii.X103A+X104I+X261E,

[0139] xiv.X62D+X245R,

[0140] xv.X101N+X128A+X217Q,

[0141] xvi.X101E+X217Q,

[0142] xvii.X101E+X217D,

[0143] xviii.X9E+X43R+X262E,

[0144] xix.X76D+X43R+X209W,

[0145] xx.X205I+X206L+X209W,

[0146] xxi.X185E+X188E+X205I,

[0147] xxii.X256D+X261W+X262E,

[0148] xxiii.X191N+X209W,

[0149] xxiv.X261E+X262E,

[0150] xxv.X261E+X262D,和

[0151] xxvi.X167A+X170S+X194P,

[0152] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶优选地与SEQ ID NO 7、8或9具有至少80%但小于100%的序列一致性。

[0153] 在本发明的一个实施例中,该具有DNA酶活性的酶与显示在SEQ ID NO:4中的多肽具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶选自下组,该组由以下组成:

[0154] (a) 蛋白酶,该蛋白酶包含显示在SEQ ID NO:8中的氨基酸序列或包含显示在SEQ ID NO 7中的氨基酸序列;

[0155] (b) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含取代S87N,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0156] (c) 蛋白酶,该蛋白酶包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;

[0157] (d) 蛋白酶,该蛋白酶包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0158] (e) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性;

[0159] (f) 蛋白酶变体,其中该变体优选地在选自以下列表的一个或多个位置处包含修饰,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261 和262,其中该变体具有蛋白酶活性并

且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100% 的序列一致性;

[0160] (g) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]和X262[E,D],其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于 BPN' (SEQ ID NO 7) 位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;以及

[0161] (h) 蛋白酶,与前体(即亲本蛋白酶)相比,该蛋白酶包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

[0162] i. X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,

[0163] ii. X9R+X15T+X68A+X245R,

[0164] iii. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0165] iv. X61D+X205I+X245R,

[0166] v. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0167] vi. X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0168] vii. X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0169] viii. X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,

[0170] ix. X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,

[0171] x. X103A+X104I,

[0172] xi. X22R+X101G+X232V+X245R,

[0173] xii. X103A+X104I+X156D,

[0174] xiii. X103A+X104I+X261E,

[0175] xiv. X62D+X245R,

[0176] xv. X101N+X128A+X217Q,

[0177] xvi. X101E+X217Q,

[0178] xvii. X101E+X217D,

[0179] xviii. X9E+X43R+X262E,

[0180] xix. X76D+X43R+X209W,

[0181] xx. X205I+X206L+X209W,

[0182] xxi. X185E+X188E+X205I,

[0183] xxii. X256D+X261W+X262E,

[0184] xxiii. X191N+X209W,

[0185] xxiv. X261E+X262E,

[0186] xxv. X261E+X262D,和

[0187] xxvi. X167A+X170S+X194P,

[0188] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶优选地与SEQ ID NO

7、8或9具有至少80%的序列一致性。

[0189] 在本发明的一个实施例中,该具有DNA酶活性的酶与显示在SEQ ID NO:5中的多肽具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶选自下组,该组由以下组成:

[0190] (a) 蛋白酶,该蛋白酶包含显示在SEQ ID NO:8中的氨基酸序列或包含显示在SEQ ID NO 7中的氨基酸序列;

[0191] (b) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含取代S87N,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0192] (c) 蛋白酶,该蛋白酶包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;

[0193] (d) 蛋白酶,该蛋白酶包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0194] (e) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性;

[0195] (f) 蛋白酶变体,其中该变体优选地在选自以下列表的一个或多个位置处包含修饰,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261和262,其中该变体具有蛋白酶活性并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0196] (g) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]和X262[E,D],其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;以及

[0197] (h) 蛋白酶,与前体(即亲本蛋白酶)相比,该蛋白酶包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

[0198] i. X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,

[0199] ii. X9R+X15T+X68A+X245R,

[0200] iii. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0201] iv. X61D+X205I+X245R,

[0202] v. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0203] vi. X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0204] vii. X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,

- [0205] viii.X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,
[0206] ix.X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,
[0207] x.X103A+X104I,
[0208] xi.X22R+X101G+X232V+X245R,
[0209] xii.X103A+X104I+X156D,
[0210] xiii.X103A+X104I+X261E,
[0211] xiv.X62D+X245R,
[0212] xv.X101N+X128A+X217Q,
[0213] xvi.X101E+X217Q,
[0214] xvii.X101E+X217D,
[0215] xviii.X9E+X43R+X262E,
[0216] xix.X76D+X43R+X209W,
[0217] xx.X205I+X206L+X209W,
[0218] xxi.X185E+X188E+X205I,
[0219] xxii.X256D+X261W+X262E,
[0220] xxiii.X191N+X209W,
[0221] xxiv.X261E+X262E,
[0222] xxv.X261E+X262D,和
[0223] xxvi.X167A+X170S+X194P,

[0224] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶优选地与SEQ ID NO 7、8或9具有至少80%的序列一致性。

[0225] 在本发明的一个实施例中,该具有DNA酶活性的酶与显示在SEQ ID NO:6中的多肽具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶选自下组,该组由以下组成:

[0226] (a) 蛋白酶,该蛋白酶包含显示在SEQ ID NO:8中的氨基酸序列或包含显示在SEQ ID NO 7中的氨基酸序列;

[0227] (b) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含取代S87N,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0228] (c) 蛋白酶,该蛋白酶包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;

[0229] (d) 蛋白酶,该蛋白酶包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7)的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0230] (e) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性;

[0231] (f) 蛋白酶变体,其中该变体优选地在选自以下列表的一个或多个位置处包含修饰,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、

205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261 和262,其中该变体具有蛋白酶活性并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100% 的序列一致性;

[0232] (g) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]和X262[E,D],其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于 BPN' (SEQ ID NO 7) 位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;以及

[0233] (h) 蛋白酶,与前体(即亲本蛋白酶)相比,该蛋白酶包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

[0234] i. X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,

[0235] ii. X9R+X15T+X68A+X245R,

[0236] iii. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0237] iv. X61D+X205I+X245R,

[0238] v. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0239] vi. X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0240] vii. X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0241] viii. X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,

[0242] ix. X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,

[0243] x. X103A+X104I,

[0244] xi. X22R+X101G+X232V+X245R,

[0245] xii. X103A+X104I+X156D,

[0246] xiii. X103A+X104I+X261E,

[0247] xiv. X62D+X245R,

[0248] xv. X101N+X128A+X217Q,

[0249] xvi. X101E+X217Q,

[0250] xvii. X101E+X217D,

[0251] xviii. X9E+X43R+X262E,

[0252] xix. X76D+X43R+X209W,

[0253] xx. X205I+X206L+X209W,

[0254] xxi. X185E+X188E+X205I,

[0255] xxii. X256D+X261W+X262E,

[0256] xxiii. X191N+X209W,

[0257] xxiv. X261E+X262E,

[0258] xxv. X261E+X262D,和

[0259] xxvi. X167A+X170S+X194P,

[0260] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶优选地与SEQ ID NO 7、8或9具有至少80%的序列一致性。

[0261] 本发明还提供了基本上与以上多肽同源的DNA酶多肽及其种类同系物(旁系同源物或直系同源物)。术语“基本上同源”在此用于表示与SEQ ID NO:1的氨基酸序列、SEQ ID NO:2的氨基酸序列、SEQ ID NO:3的氨基酸序列、SEQ ID NO:4的氨基酸序列、SEQ ID NO:5的氨基酸序列,SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少80%, 优选至少85%,更优选至少90%,更优选至少95%,甚至更优选至少97%相同,并且最优选至少99%或更多相同多肽或具有DNA酶活性的片段,或其直系同源物或旁系同源物。

[0262] 在另一个实施例中,SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6的DNA酶在一个或多个(例如,若干个)位置处包含取代、缺失和/或插入。在另一个实施例中,SEQ ID NO:3的DNA酶在一个或多个(例如,若干个)位置包含取代、缺失和/或插入。在一个实施例中,引入序列的成熟多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目不超过10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、或9。这些氨基酸改变可以具有微小性质,即,不会显著地影响蛋白质的折叠和/或活性的保守氨基酸取代或插入;小缺失,典型地为1-30个氨基酸;小的氨基或羧基-末端延伸,如氨基末端的甲硫氨酸残基;多达20-25个残基的小接头肽;或通过改变净电荷或另外的功能促进纯化的小的延伸,如聚组氨酸段、抗原表位或结合结构域。

[0263] 保守取代的实例是在下组之内:碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸及组氨酸)、酸性氨基酸(谷氨酸和天冬氨酸)、极性氨基酸(谷氨酰胺和天冬酰胺)、疏水性氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸及缬氨酸)、芳香族氨基酸(苯丙氨酸、色氨酸及酪氨酸)及小氨基酸(甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸及甲硫氨酸)。一般不会改变比活性的氨基酸取代是本领域已知的并且例如由H.Neurath和R.L.Hill,1979,于The Proteins[蛋白质], Academic Press[学术出版社],New York[纽约]中描述。常见取代为Ala/Ser、Val/Ile、Asp/Glu、Thr/Ser、Ala/Gly、Ala/Thr、Ser/Asn、Ala/Val、Ser/Gly、Tyr/Phe、Ala/Pro、Lys/Arg、Asp/Asn、Leu/Ile、Leu/Val、Ala/Glu和Asp/Gly。

[0264] 可替代地,这些氨基酸变化具有这样的性质:改变多肽的物理化学特性。例如,氨基酸变化可改进多肽的热稳定性、改变底物特异性、改变最适pH,等。

[0265] 可根据本领域中已知的方法,如定点诱变或丙氨酸扫描诱变(Cunningham和Wells,1989,Science[科学]244:1081-1085)来鉴定多肽中的必需氨基酸。在后一项技术中,在该分子中的每个残基处引入单个丙氨酸突变,并且对所得突变体分子的DNA酶活性进行测试以鉴定对于该分子的活性至关重要的氨基酸残基。还参见,Hilton等,1996,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]271:4699-4708。酶或其他生物学相互作用的活性位点还可以通过对结构的物理分析来确定,如通过这样的技术确定:如核磁共振、晶体学、电子衍射或光亲和标记,连同对推定的接触位点氨基酸进行突变。参见,例如,de Vos等,1992,Science[科学]255:306-312;Smith等,1992,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]224:899-904;Wlodaver等,1992,FEBS Lett.[欧洲生化学会联合会快报]309:59-64。还可以从与相关多肽的比对来推断必需氨基酸的身份。

[0266] 可以做出单个或多个氨基酸取代、缺失和/或插入并且使用已知的诱变、重组和/或改组方法进行测试,随后进行有关筛选程序,如由Reidhaar-Olson和Sauer,1988,

Science[科学]241:53-57;Bowie和Sauer,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]86:2152-2156;WO 95/17413;或WO 95/22625所披露的那些。其他可以使用的方法包括易错PCR、噬菌体展示(例如Lowman等人,1991,Biochemistry[生物化学]30:10832-10837;美国专利号5,223,409;WO 92/06204)以及区域定向诱变(Derbyshire 等人,1986,Gene[基因]46:145;Ner等人,1988,DNA7:127)。

[0267] 诱变/改组方法可以与高通量自动化筛选方法组合以检测由宿主细胞表达的克隆的诱变多肽的活性(Ness等人,1999,Nature Biotechnology[自然生物技术]17:893-896)。可以从宿主细胞回收编码活性多肽的诱变的DNA分子,并且使用本领域的标准方法快速测序。这些方法允许迅速确定多肽中单个氨基酸残基的重要性。

[0268] 该多肽可以是一种杂交多肽,其中一个多肽的一个区域融合在另一个多肽的一个区域的N-末端或C-末端。

[0269] 该多肽可以是一种融合多肽或可裂解的融合多肽,其中另一个多肽是在本发明多肽的N-末端或C-末端处融合。通过将编码另一种多肽的多核苷酸与本发明多核苷酸融合而产生融合多肽。用于产生融合多肽的技术是本领域已知的,且包括连接编码多肽的编码序列使得它们符合读框,而且融合多肽的表达处于相同的启动子和终止子的控制之下。融合多肽还可以使用内含肽技术来构建,其中融合多肽在翻译后产生(Cooper等人,1993,EMBO J.[欧洲分子生物学学会杂志]12:2575-2583;Dawson等人,1994,Science[科学]266:776-779)。

[0270] 融合多肽可进一步包含两个多肽之间的切割位点。在融合蛋白分泌之时,该位点被切割而释放所述两个多肽。切割位点的实例包括但不限于以下文献中披露的位点:Martin等人,2003,J.Ind.Microbiol.Biotechnol.[工业微生物学与生物技术杂志]3:568-576;Svetina等人,2000,J.Biotechnol.[生物技术杂志]76:245-251;Rasmussen-Wilson等人,1997,Appl.Environ.Microbiol.[应用环境微生物学]63:3488-3493;Ward等人,1995,Biotechnology[生物技术]13:498-503;以及Contreras 等人,1991,Biotechnology[生物技术]9:378-381;Eaton等人,1986,Biochemistry[生物化学]25:505-512;Collins-Racie等人,1995,Biotechnology[生物技术]13:982-987;Carter等人,1989,Proteins:Structure,Function,and Genetics[蛋白质:结构和遗传学]6:240-248;以及Stevens,2003,Drug Discovery World[世界药物发现]4:35-48。

[0271] 表面活性剂

[0272] 该洗涤剂组合物包含一种或多种表面活性剂,其中至少一种表面活性剂是阴离子的。其他表面活性剂可以是阴离子的和/或非离子的和/或半极性的和/或两性离子的、或其混合物。在具体实施例中,洗涤剂组合物包括一种或多种非离子型表面活性剂和一种或多种阴离子表面活性剂的混合物。这种或这些表面活性剂典型地以按重量计从约0.1%至60%的水平存在,如约1%至约40%、或约3%至约20%、或约3%至约10%。基于所希望的清洁应用来选择这种或这些表面活性剂,并且这种或这些表面活性剂包括本领域中已知的任何常规表面活性剂。

[0273] 当包括在其中时,该洗涤剂通常将含有按重量计约1%至约40%的阴离子表面活性剂,如约5%至约30%,包括从约5%至约15%,或从约15%至约20%,或从约20%至约25%的阴离子型表面活性剂。阴离子表面活性剂的非限制性实例包括硫酸盐和磺酸盐,具

体地,直链烷基苯磺酸盐(LAS)、LAS的异构体、支链烷基苯磺酸盐(BABS)、苯基链烷磺酸盐、 α -烯炔磺酸盐(AOS)、烯炔磺酸盐、链烯炔磺酸盐、链烷-2,3-二基双(硫酸盐)、羟基链烷磺酸盐以及二磺酸盐、烷基硫酸盐(AS)(如十二烷基硫酸钠(SDS))、脂肪醇硫酸盐(FAS)、伯醇硫酸盐(PAS)、醇醚硫酸盐(AES或AEOS或FES,也被称为醇乙氧基硫酸盐或脂肪醇醚硫酸盐)、仲链烷磺酸盐(SAS)、石蜡 炔磺酸盐(PS)、酯磺酸盐、磺化的脂肪酸甘油酯、 α -磺酸基脂肪酸甲酯(α -SFMe或 SES)(包括甲酯磺酸盐(MES))、烷基琥珀酸或烯基琥珀酸、十二烯基/十四烯基琥珀酸(DTSA)、氨基酸的脂肪酸衍生物、磺酸基琥珀酸或脂肪酸盐(皂)的二酯和单 酯及其组合。

[0274] 当被包括在其中时,该洗涤剂将通常含有按重量计从约0.2%至约40%的非离子表面活性剂,例如从约0.5%至约30%,特别是从约1%至约20%、从约3%至约10%,如从约3%至约5%、从约8%至约12%或从约10%至约12%。非离子型表面活性剂的非限制性实例包括醇乙氧基化物(AE或AEO)、醇丙氧基化物、丙氧基化的脂肪醇(PFA),烷氧基化的脂肪酸烷基酯(如乙氧基化的和/或丙氧基化的脂肪酸烷基酯), 烷基酚乙氧基化物(APE),壬基酚乙氧基化物(NPE),烷基多糖苷(APG),烷氧 基化胺,脂肪酸单乙醇酰胺(FAM),脂肪酸二乙醇酰胺(FADA),乙氧基化的脂肪 酸单乙醇酰胺(EFAM),丙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(PFAM),多羟基烷基脂肪 酸酰胺,或葡萄糖胺的N-酰基N-烷基衍生物(葡糖酰胺(GA),或脂肪酸葡糖酰胺(FAGA)),连同在SPAN和TWEEN商品名下可获得的产品,及其组合。

[0275] 当被包括在其中时,洗涤剂将通常含有按重量计从约0%至约40%的半极性表面活性剂。半极化表面活性剂的非限制性实例包括氧化胺(AO),如烷基二甲胺氧化物、N-(椰油基烷基)-N,N-二甲胺氧化物和N-(牛油-烷基)-N,N-双(2-羟乙基)胺氧化物,及其 组合。

[0276] 当被包括在其中时,洗涤剂将通常含有按重量计从约0%至约40%的兼性离子表面活性剂。兼性离子表面活性剂的非限制性实例包括甜菜碱,如烷基二甲基甜菜碱、磺基甜菜碱及其组合。

[0277] 助洗剂和共助洗剂

[0278] 该洗涤剂组合物可以含有按重量计约0-65%,如约5%至约50%的洗涤剂助洗剂或共助洗剂、或其混合物。助洗剂和/或共助洗剂可以具体是与Ca和Mg形成水溶性 络合物的螯合试剂。可以使用本领域中已知用于在洗涤剂中使用的任何助洗剂和/或 共助洗剂。助洗剂的非限制性实例包括沸石、二磷酸盐(焦磷酸盐)、三磷酸盐例如 三磷酸钠(STP或STPP)、碳酸盐例如碳酸钠、可溶性硅酸盐例如硅酸钠、层状硅酸 盐(例如来自赫斯特公司(Hoechst)的SKS-6)、乙醇胺例如2-氨基乙-1-醇(MEA)、二乙醇胺(DEA,也称为2,2'-亚氨基二乙-1-醇)、三乙醇胺(TEA,也称为2,2',2''-次氨基三乙-1-醇)、以及羧甲基菊粉(CMI)、及其组合。

[0279] 该洗涤剂组合物还可以含有按重量计0-50%,如约5%至约30%的洗涤剂共助洗剂。洗涤剂组合物可以只包括共助洗剂,或结合助洗剂,例如沸石助洗剂。共助洗剂 的非限制性实例包括聚丙烯酸酯的均聚物或其共聚物,如聚(丙烯酸)(PAA)或共聚(丙 烯酸/马来酸)(PAA/PMA)。另外的非限制性实例包括柠檬酸盐、螯合剂(如氨基羧 酸盐、氨基多羧酸盐和磷酸盐)、以及烷基-或烯基琥珀酸。另外的具体实例包括2,2',2''-次氨基三乙酸(NTA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、亚 氨基二丁二酸(IDS)、乙二胺-N,N'-二丁二酸(EDDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、谷氨酸-N,N'-二乙酸(GLDA)、1-羟基乙烷-1,

1-二膦酸 (HEDP)、乙二胺四(亚甲基膦酸) (EDTMPA)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸) (DTMPA 或 DTPMPA)、N-(2-羟乙基) 亚氨基二乙酸 (EDG)、天冬氨酸-N-单乙酸 (ASMA)、天冬氨酸-N,N-二乙酸 (ASDA)、天冬氨酸-N-单丙酸 (ASMP)、亚氨基二丁二酸 (iminodisuccinic acid) (IDA)、N-(2-磺甲基)-天冬氨酸 (SMAS)、N-(2-磺乙基)-天冬氨酸 (SEAS)、N-(2-磺甲基)-谷氨酸 (SMGL)、N-(2-磺乙基)-谷氨酸 (SEGL)、N-甲基亚氨基二乙酸 (MIDA)、 α -丙氨酸-N,N-二乙酸 (α -ALDA)、丝氨酸-N,N-二乙酸 (SEDA)、异丝氨酸-N,N-二乙酸 (ISDA)、苯丙氨酸-N,N-二乙酸 (PHDA)、邻氨基苯甲酸-N,N-二乙酸 (ANDA)、磺胺酸-N,N-二乙酸 (SLDA)、牛磺酸-N,N-二乙酸 (TUDA) 以及磺甲基-N,N-二乙酸 (SMDA)、N-(2-羟乙基)-亚乙基二胺-N,N',N''-三乙酸盐 (HEDTA)、二乙醇甘氨酸 (DEG)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸) (DTPMP)、氨基三(亚甲基膦酸) (ATMP) 及其组合和盐。其他示例性助洗剂和/或共助洗剂描述于例如 WO 09/102854、US 5977053 中。

[0280] 沸石

[0281] 优选的一类沸石被表征为“中间体”硅酸盐/铝酸盐沸石。通过小于约10的 $\text{SiO}_x/\text{AlO}_z$ 摩尔比来表征这些中间体沸石。优选地, $\text{SiO}_2/\text{AlO}_2$ 的摩尔比范围从约2 至约10。这些中间体沸石可以具有优于“高”沸石的优点。这些中间体沸石对胺类 气味具有更高亲和力, 它们对于气味吸收更有效, 因为它们具有更大的表面积, 并且 它们比高沸石更耐水分并且在水中保持更多的它们的气味吸收能力。适用于在此使用 的多种多样的中间体沸石是可商购的, 如 **Valfor®** CP301-68、**Valfor®** 300-63、**Valfor®** CP300-35、以及 **Valfor®** CP300-56 可从PQ公司获得, 并且沸石的 **CBV100®** 系列可从 Conteka公司获得。

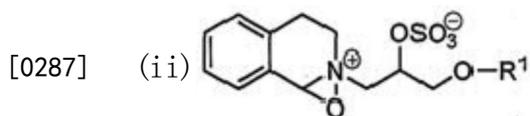
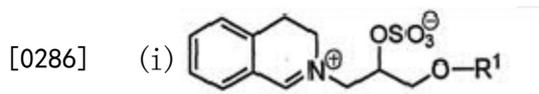
[0282] 以商品名 **Absents®** 和 **Smellrite®** 销售的, 可从联合碳化物公司 (Union Carbide Corporation) 和UOP获得的沸石材料也是优选的。这些材料优于用于控制含硫气味 (例如硫醇 (thiol)、硫醇 (mercaptan)) 的中间体沸石。

[0283] 当沸石用作有待喷洒至表面上的组合物中的气味控制剂时, 该沸石材料优选地具有小于约10微米的颗粒大小, 并且以按该组合物重量计小于约1%的水平存在于组合物中。

[0284] 漂白系统

[0285] 洗涤剂可以含有按重量计0-30%, 如约1%至约20%的漂白系统。可以使用本领域中已知用于洗涤剂中的任何漂白系统。适合的漂白系统组分包括漂白催化剂、光漂白剂、漂白活化剂、过氧化氢源如过碳酸钠、过硼酸钠和过氧化氢-尿素 (1:1)、预成型过酸及其混合物。适合的预成型过酸包括但不限于过氧羧酸及盐、二过氧二羧酸、过亚氨酸 (perimidic acid) 及盐、过氧单硫酸及盐 (例如过硫酸氢钾 (Oxone (R)) 及其混合物。漂白系统的非限制性实例包括基于过氧化物的漂白系统, 这些系统可以 包含例如与过酸形成漂白活化剂组合的无机盐, 包括碱金属盐, 如过硼酸盐 (通常是 单水合物或四水合物)、过碳酸盐、过硫酸盐、过磷酸盐、过硅酸盐的钠盐。术语漂白活化剂在此意指与过氧化氢反应以经由过水解反应形成过酸的化合物。以此方式形成的过酸构成活化的漂白剂。在此有待使用的适合漂白活化剂包括属于酯、酰胺、酰亚胺或酸酐类别的那些。适合的实例是四乙酰乙二胺 (TAED)、4-[(3,5,5-三甲基己酰基) 氧基] 苯-1-磺酸钠 (ISONOBS)、4-(十二酰基氧基) 苯-1-磺酸盐 (LOBS)、4-(癸酰基氧基) 苯-1-磺酸盐、4-(癸酰基氧基) 苯甲酸盐 (DOBS)

或DOBA)、4-(壬酰氧基)苯-1-磺酸盐(NOBS)和/或披露于WO 98/17767中的那些。感兴趣的漂白活化剂的具体家族披露于EP 624154中并且该家族中特别优选的是乙酰柠檬酸三乙酯(ATC)。ATC或短链甘油三酸酯(像三醋汀)具有以下优点,它是环境友好的。此外,乙酰柠檬酸三乙酯和三醋汀在存储时在产品中具有良好的水解稳定性,并且是一种有效的漂白活化剂。最后,ATC是多功能的,因为在过水解反应中释放的柠檬酸盐可以作为助洗剂起作用。可替代地,漂白系统可以包含例如酰胺、酰亚胺或砜型的过氧酸。漂白系统还可以包含过酸,如6-(苯二甲酰亚氨基)过己酸(PAP)。该漂白系统还可以包括漂白催化剂。在一些实施例中,漂白组分可以是选自下组的有机催化剂,该组由以下组成:具有下式的有机催化剂:



[0288] (iii) 及其混合物;

[0289] 其中每个R¹独立地是含有从9至24个碳的支链烷基基团或含有从11至24个碳的直链烷基基团,优选地每个R¹独立地是含有从9至18个碳的支链烷基基团或含有从11至18个碳的直链烷基基团,更优选地每个R¹独立地选自下组,该组由以下组成:2-丙基庚基、2-丁基辛基、2-戊基壬基、2-己基癸基、十二烷基、十四烷基、十六烷基、十八烷基、异壬基、异癸基、异十三烷基以及异十五烷基。其他示例性漂白系统描述于例如WO 2007/087258、WO 2007/087244、WO 2007/087259、EP 1867708 (维生素K)以及WO 2007/087242中。适合的光漂白剂可以例如是磺化的酞菁锌或酞菁铝。

[0290] 优选地,除了漂白催化剂、特别是有机漂白催化剂以外,漂白组分还包含过酸源。过酸源可以选自(a)预形成的过酸;(b)过碳酸盐、过硼酸盐或过硫酸盐(过氧化氢源),优选与一种漂白活化剂组合;和(c)过水解酶以及酯,用于在纺织品处理步骤中在水的存在下原位形成过酸。

[0291] 聚合物

[0292] 洗涤剂可以含有按重量计0-10%,如0.5%-5%、2%-5%、0.5%-2%或0.2%-1%的聚合物。可以利用本领域中已知的用于在洗涤剂中使用的任何聚合物。该聚合物可以作为如上文提到的共助洗剂起作用,或可以提供抗再沉积、纤维保护、污垢释放、染料转移抑制、油污清洁和/或抑泡特性。一些聚合物可以具有多于一种的以上提到的特性和/或多于一种的以下提到的基序。示例性聚合物包括(羧甲基)纤维素(CMC)、聚(乙烯醇)(PVA)、聚(乙烯吡咯烷酮)(PVP)、聚(乙二醇)或聚(环氧乙烷)(PEG)、乙氧基化的聚(亚乙基亚胺)、羧甲基菊粉(CMI)、和聚羧化物,例如PAA、PAA/PMA、聚-天冬氨酸、和甲基丙烯酸月桂酯/丙烯酸共聚物、疏水修饰CMC(HM-CMC)和硅酮、对苯二甲酸和低聚乙二醇的共聚物、聚(对苯二甲酸乙二酯)和聚(氧乙烯对苯二甲酸乙二酯)的共聚物(PET-POET)、PVP、聚(乙烯基咪唑)(PVI)、聚(乙烯吡啶-N-氧化物)(PVPO或PVPNO)以及聚(乙烯吡咯烷酮-乙基咪唑)(PVPVI)。另外的示例性聚合物包括磺化的聚羧酸酯、聚环氧乙烷和聚环氧丙烷(PEO-PP0)

以及乙氧基 硫酸二季铵盐。其他示例性聚合物披露于例如WO 2006/130575中。也考虑了以上提到的聚合物的盐。

[0293] 织物调色剂

[0294] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括织物调色剂,如染料或色素,当配制在洗涤剂组合物中时,当所述织物与一种洗液接触时织物调色剂可以沉积在织物上,该洗液包含所述洗涤剂组合物,并且因此通过可见光的吸收/反射改变所述织物的色彩。荧光 增白剂发射至少一些可见光。相比之下,因为它们吸收至少一部分可见光光谱,所以 织物调色剂改变表面的色彩。适合的织物调色剂包括染料和染料-粘土轭合物,并且 还可以包括色素。适合的染料包括小分子染料和聚合物染料。适合的小分子染料包括 选自下组的小分子染料,该组由落入颜色索引(Colour Index) (C.I.) 分类的以下染料组成:直接蓝、直接红、直接紫、酸性蓝、酸性红、酸性紫、碱性蓝、碱性紫和碱性红、或其混合物,例如描述于WO 2005/03274、WO 2005/03275、WO 2005/03276 和EP 1876226中(将其通过引用结合在此)。洗涤剂组合物优选包含从约0.00003wt% 至约0.2wt%、从约0.00008wt%至约0.05wt%、或甚至从约0.0001wt%至约0.04wt% 的织物调色剂。该组合物可以包含从0.0001wt%至0.2wt% 的织物调色剂,当该组合物处于单位剂量袋的形式时,这可以是特别优选的。适合的调色剂还披露于例如WO 2007/087257和WO 2007/087243中。

[0295] 酶

[0296] 洗涤剂添加剂连同洗涤剂组合物可以包含一种或多种另外的酶,如蛋白酶、脂肪酶、角质酶、淀粉酶、糖酶、纤维素酶、果胶酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶、半乳糖酶、木聚糖酶、氧化酶,例如漆酶、和/或过氧化物酶。

[0297] 一般而言,所选一种或多种酶的特性应与选定的洗涤剂相容(即,最适pH,与其他酶和非酶成分的相容性等),并且这种或这些酶应以有效量存在。

[0298] 纤维素酶:

[0299] 适合的纤维素酶包括细菌或真菌来源的那些。包括化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。适合的纤维素酶包括来自芽孢杆菌属、假单胞菌属、腐质霉属、镰刀 菌属、梭孢壳属、支顶孢属的纤维素酶,例如披露于US 4,435,307、US 5,648,263、US 5,691,178、US 5,776,757以及WO 89/09259中的由特异腐质霉、嗜热毁丝霉和尖 孢镰刀菌产生的真菌纤维素酶。

[0300] 特别适合的纤维素酶是具有颜色护理益处的碱性或中性纤维素酶。这类纤维素酶的实例是在EP 0 495 257、EP 0 531 372、WO 96/11262、WO 96/29397、WO 98/08940 中描述的纤维素酶。其他实例是例如描述于WO 94/07998、EP 0 531 315、US 5,457,046、US 5,686,593、US 5,763,254、WO 95/24471、WO 98/12307以及WO 99/001544中的那些纤维素酶变体。

[0301] 其他纤维素酶是具有以下序列的内切- β -1,4-葡聚糖酶,该序列与WO 2002/099091 的SEQ ID NO:2的位置1至位置773的氨基酸序列具有至少97%的一致性,或家族44木葡聚糖酶,该木葡聚糖酶具有以下序列,该序列与WO 2001/062903的SEQ ID NO: 2的位置40-559具有至少60%的一致性。

[0302] 可商购的纤维素酶包括CelluzymeTM和CarezymeTM(诺维信公司(Novozymes A/S))、Carezyme PremiumTM(诺维信公司)、CellucleanTM(诺维信公司)、Celluclean

Classic™(诺维信公司)、Cellusoft™(诺维信公司)、Whitezyme™(诺维信公司)、Clazinase™和Puradax HA™(杰能科国际公司(Genencor International Inc.))以及KAC-500(B)™(花王株式会社(Kao Corporation))。

[0303] 蛋白酶:

[0304] 本发明的组合物可以包含多于一种蛋白酶,适合的另外的蛋白酶包括细菌、真菌、植物、病毒或动物来源的那些,例如植物或微生物来源。优选的是微生物来源。包括化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。它可以是碱性蛋白酶,例如丝氨酸蛋白酶或金属蛋白酶。丝氨酸蛋白酶可以例如是S1家族(如胰蛋白酶)或S8家族(如枯草杆菌蛋白酶)。金属蛋白酶可以例如是来自例如家族M4的嗜热菌蛋白酶或其他金属蛋白酶,如来自M5、M7或M8家族的那些。

[0305] 术语“枯草杆菌酶”是指根据Siezen等人,Protein Engng.[蛋白质工程学]4(1991) 719-737和Siezen等人,Protein Science[蛋白质科学]6(1997) 501-523的丝氨酸蛋白酶亚组。丝氨酸蛋白酶是特征为在活性位点具有与底物形成共价加合物的丝氨酸的蛋白酶的一个亚组。枯草杆菌蛋白酶(subtilase)可以划分为6个亚部,即,枯草杆菌蛋白酶家族、嗜热蛋白酶(Thermitase)家族、蛋白酶K家族、羊毛硫氨酸抗生素肽酶(Lantibiotic peptidase)家族、Kexin家族和Pyrolysins家族。

[0306] 枯草杆菌酶的实例是获得自芽孢杆菌属的那些,例如描述于US 7262042和WO 09/021867中的迟缓芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和吉氏芽孢杆菌;和描述于WO 89/06279中的枯草杆菌蛋白酶lentus、枯草杆菌蛋白酶Novo、枯草杆菌蛋白酶Carlsberg、地衣芽孢杆菌、枯草杆菌蛋白酶BPN'、枯草杆菌蛋白酶309、枯草杆菌蛋白酶147和枯草杆菌蛋白酶168以及描述于(WO 93/18140)中的蛋白酶PD138。其他有用的蛋白酶可以是描述于WO 92/175177、WO 01/016285、WO 02/026024以及WO 02/016547中的那些。胰蛋白酶样蛋白酶的实例是胰蛋白酶(例如猪或牛来源的)和镰孢菌蛋白酶(描述于WO 89/06270、WO 94/25583和WO 05/040372中),以及获得自纤维单胞菌(Cellulomonas)的胰凝乳蛋白酶(描述于WO 05/052161和WO 05/052146中)。

[0307] 进一步优选的蛋白酶是来自迟缓芽孢杆菌DSM 5483的碱性蛋白酶(如在例如WO 95/23221中所述)、及其变体(在WO 92/21760、WO 95/23221、EP 1921147以及EP 1921148中描述的)。

[0308] 金属蛋白酶的实例是如描述于WO 07/044993(杰能科国际公司(Genencor Int.))中的中性金属蛋白酶,例如获得自解淀粉芽孢杆菌的那些。

[0309] 有用的蛋白酶的实例是于以下各项中的变体:WO 92/19729、WO 96/034946、WO 98/20115、WO 98/20116、WO 99/011768、WO 01/44452、WO 03/006602、WO 04/03186、WO 04/041979、WO 07/006305、WO 11/036263、WO 11/036264,尤其是在以下位置的一个或多个中具有取代的变体:3、4、9、15、27、36、57、68、76、87、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、106、118、120、123、128、129、130、160、167、170、194、195、199、205、206、217、218、222、224、232、235、236、245、248、252以及274,使用BPN'编号。更优选地,这些枯草杆菌酶变体可以包含以下突变:S3T、V4I、S9R、A15T、K27R、*36D、V68A、N76D、N87S、R、*97E、A98S、S99G、D、A、S99AD、S101G、M、R、S103A、V104I、Y、N、S106A、G118V、R、H120D、N、N123S、S128L、P129Q、S130A、G160D、Y167A、R170S、A194P、G195E、V199M、V205I、L217D、N218D、M222S、A232V、

K235L、Q236H、Q245R、N252K、T274A(使用BPN' 编号)。

[0310] 适合的可商购蛋白酶酶包括以下列商品名出售的那些: **Alcalase®**、**Duralase™**、**Durazym™**、**Relase®**、**Relase® Ultra**、**Savinase®**、**Savinase® Ultra**、**Primase®**、**Polarzyme®**、**Kannase®**、**Liquanase®**、**Liquanase® Ultra**、

Ovozyme®、**Coronase®**、**Coronase® Ultra**、**Neutrase®**、**Everlase®**和**Esperase®** (诺维信公司),以下列商品名 出售的那些:

Maxatase®、**Maxacal®**、**Maxapem®**、**Purafect®**、**Purafect Prime®**、**Preferenz™**、**Purafect MA®**、**Purafect Ox®**、**Purafect OxP®**、**Puramax®**、**Properase®**、**Effectenz™**、**FN2®**、**FN3®**、**FN4®**、**Excellase®**、**Opticlean®**以及**Optimase®** (丹尼斯克/杜邦公司 (Danisco/DuPont))、**Axapem™** (吉斯特布罗卡德斯公司 (Gist-Brocades N.V.))、**BLAP** (序列示于US 5352604的图29中) 及其变体 (汉高股份 (Henkel AG)) 以及来自花王株式会社 (Kao) 的**KAP** (嗜碱芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶)。

[0311] 脂肪酶和角质酶:

[0312] 适合的脂肪酶和角质酶包括细菌来源或真菌来源的那些。包括化学修饰的或蛋白质工程化的突变酶。实例包括如在EP 258068和EP 305216中所述的来自嗜热丝孢菌属 (*Thermomyces*) (例如来自疏绵状嗜热丝孢菌 (*T. lanuginosus*) (以前命名为柔毛 腐质霉 (*Humicola lanuginosa*)) 的脂肪酶、来自腐质霉属 (例如特异腐质霉 (*H. insolens*) (WO 96/13580)) 的角质酶、来自假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 菌株 (这些假单胞菌 属菌株中的一些现在重命名为伯克氏菌属) (例如,产碱假单胞菌 (*P. alcaligenes*) 或 类产碱假单胞菌 (*P. pseudoalcaligene*) (EP 218272))、洋葱假单胞菌 (*P. cepacia*) (EP 331376)、假单胞菌属物种菌株SD705 (WO 95/06720&WO 96/27002)、威斯康星假 单胞菌 (*P. wisconsinensis*) (WO 96/12012) 的脂肪酶、GDSL型链霉菌属脂肪酶 (WO 10/065455)、来自稻瘟病菌 (WO 10/107560) 的角质酶、来自门多萨假多胞菌 (US 5,389,536) 的角质酶、来自嗜热裂孢菌 (WO 11/084412) 的脂肪酶、嗜热脂肪土芽孢 杆菌脂肪酶 (WO 11/084417)、来自枯草芽孢杆菌 (WO 11/084599) 的脂肪酶、以及 来自灰色链霉菌 (WO 11/150157) 和始旋链霉菌 (WO 12/137147) 的脂肪酶。

[0313] 其他实例是脂肪酶变体,例如描述于EP 407225、WO 92/05249、WO 94/01541、WO 94/25578、WO 95/14783、WO 95/30744、WO 95/35381、WO 95/22615、WO 96/00292、WO 97/04079、WO 97/07202、WO 00/34450、WO 00/60063、WO 01/92502、WO 07/87508以及WO 09/109500中的那些。

[0314] 优选的商业化脂肪酶产品包括**Lipolase™**、**Lipex™**、**Lipolex™**和**Lipoclean™** (诺维信公司),**Lumafast** (来自杰能科公司 (Genencor)) 以及**Lipomax** (来自吉斯特布 罗卡德斯公司 (Gist-Brocades))。

[0315] 再其他实例是有时称为酰基转移酶或过水解酶的脂肪酶,例如与南极假丝酵母 (*Candida antarctica*) 脂肪酶A具有同源性的酰基转移酶 (WO 10/111143)、来自耻 垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*) 的酰基转移酶 (WO 05/56782)、来自CE 7 家族的过水解酶 (WO 09/67279) 以及耻垢分枝杆菌过水解酶的变体 (特别是来自亨 斯迈纺织品染色有限

公司(Huntsman Textile Effects Pte Ltd)的商业产品Gentle Power Bleach中所用的S54V变体)(WO 10/100028)。

[0316] 淀粉酶:

[0317] 可以与本发明的酶一起使用的适合的淀粉酶可以是 α -淀粉酶或葡糖淀粉酶并且可以是细菌或真菌来源的。包括化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。淀粉酶 包括例如从芽孢杆菌属,例如地衣芽孢杆菌的特定菌株(更详细地描述于GB 1,296,839中)获得的 α -淀粉酶。

[0318] 适合的淀粉酶包括具有在WO 95/10603中的SEQ ID NO:2的淀粉酶或与SEQ ID NO:3具有90%的序列一致性的其变体。优选的变体描述于WO 94/02597、WO 94/18314、WO 97/43424以及WO 99/019467的SEQ ID NO:4中,如在以下位置中的一个或多个处具有取代的变体:15、23、105、106、124、128、133、154、156、178、179、181、188、190、197、201、202、207、208、209、211、243、264、304、305、391、408以及444。

[0319] 不同的适合的淀粉酶包括具有WO 02/010355中的SEQ ID NO:6的淀粉酶或与 SEQ ID NO:6具有90%的序列一致性的其变体。SEQ ID NO:6的优选变体是在位置 181和182中具有缺失并且在位置193中具有取代的那些。

[0320] 其他适合的淀粉酶是包含在WO 2006/066594的SEQ ID NO:6中所示的获得自解淀粉芽孢杆菌的 α -淀粉酶的残基1-33和在WO 2006/066594的SEQ ID NO:4中所示的地衣芽孢杆菌 α -淀粉酶的残基36-483的杂合 α -淀粉酶或其具有90%的序列一致性的变体。这一杂合 α -淀粉酶的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:G48、T49、G107、H156、A181、N190、M197、I201、A209以及Q264。包含示于WO 2006/066594的SEQ ID NO:6中的获得自解淀粉芽孢杆菌的 α -淀粉酶的残基1-33和SEQ ID NO:4的残基36-483的杂合 α -淀粉酶的最优选变体是 具有以下取代的那些:

[0321] M197T;

[0322] H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S;或

[0323] G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F+A209V+Q264S。

[0324] 另外的适合的淀粉酶是具有在WO 99/019467中的SEQ ID NO:6的淀粉酶或其与SEQ ID NO:6具有90%的序列一致性的变体。SEQ ID NO:6的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的变体的那些:R181、G182、H183、G184、N195、I206、E212、E216和K269。特别优选的淀粉酶是在位置R181和G182或位置H183和G184中具有缺失的那些。

[0325] 能被使用的另外的淀粉酶是具有WO 96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7的那些或与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:7具有90%的序列一致性的其变体。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、或SEQ ID NO:7的优选的变体是在以下一个或多个位置具有取代、缺失或插入的变体的那些:140、181、182、183、184、195、206、212、243、260、269、304、和476,使用WO 96/023873的SEQ ID 2用于编号。更优选的变体是在选自181、182、183和184的两个位置中具有缺失的那些,例如位置181和182、182和183、或位置183和184。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7的最优选 淀粉酶变体是在位置183和184中具有缺失并在位置140、195、206、243、260、304和476中的一个或多个中具有取代的那些。

[0326] 可以使用的其他淀粉酶是具有WO 08/153815的SEQ ID NO:2、WO 01/66712中的SEQ ID NO:10的淀粉酶或与WO 08/153815的SEQ ID NO:2具有90%的序列一致性或与WO 01/66712中的SEQ ID NO:10具有90%的序列一致性的其变体。WO 01/66712中的SEQ ID NO:10的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:176、177、178、179、190、201、207、211以及264。

[0327] 另外的适合的淀粉酶是具有WO 09/061380的SEQ ID NO:2的淀粉酶或与SEQ ID NO:2具有90%的序列一致性的其变体。SEQ ID NO:2的优选变体是具有C末端截短和/或在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:Q87、Q98、S125、N128、T131、T165、K178、R180、S181、T182、G183、M201、F202、N225、S243、N272、N282、Y305、R309、D319、Q320、Q359、K444和G475。SEQ ID NO:2的更优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代:Q87E、R、Q98R、S125A、N128C、T131I、T165I、K178L、T182G、M201L、F202Y、N225E、R、N272E、R、S243Q、A、E、D、Y305R、R309A、Q320R、Q359E、K444E以及G475K,和/或在位置R180和/或S181或T182和/或G183中具有缺失的那些。SEQ ID NO:2的最优选的淀粉酶变体是具有以下取代的那些:

[0328] N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;

[0329] N128C+K178L+T182G+F202Y+Y305R+D319T+G475K;

[0330] S125A+N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;或

[0331] S125A+N128C+T131I+T165I+K178L+T182G+Y305R+G475K,其中这些变体是C-末端截短的并且任选地进一步在位置243处包含取代和/或在位置180和/或位置181处包含缺失。

[0332] 其他适合的淀粉酶是具有WO 01/66712中的SEQ ID NO:12的 α -淀粉酶或与SEQ ID NO:12具有至少90%的序列一致性的变体。优选的淀粉酶变体是在WO 01/66712中的SEQ ID NO:12的以下位置中的一个或多个处具有取代、缺失或插入的那些:R28、R118、N174;R181、G182、D183、G184、G186、W189、N195、M202、Y298、N299、K302、S303、N306、R310、N314;R320、H324、E345、Y396、R400、W439、R444、N445、K446、Q449、R458、N471、N484。特别优选的淀粉酶包括具有D183和G184的缺失并且具有取代R118K、N195F、R320K及R458K的变体,以及在选自下组的一个或多个位置中另外具有取代的变体:M9、G149、G182、G186、M202、T257、Y295、N299、M323、E345和A339,最优选的是在所有这些位置中另外具有取代的变体。

[0333] 其他的实例是淀粉酶变体,例如在W02011/098531、W02013/001078和W02013/001087中描述的那些。

[0334] 可商购的淀粉酶是DuramylTM、TermamylTM、FungamylTM、StainzymeTM、Stainzyme PlusTM、NatalaseTM、Liquozyme X及BANTM(来自诺维信公司),以及RapidaseTM、PurastarTM/EffectenzTM、Powerase及Preferenz S100(来自杰能科国际有限公司/杜邦公司(Genencor International Inc./DuPont))。

[0335] 过氧化物酶/氧化酶:

[0336] 根据本发明的过氧化物酶是由如由国际生物化学与分子生物学联合会命名委员会(IUBMB)陈述的酶分类EC 1.11.1.7包含的过氧化物酶,或获得自其中的展示出过氧化物酶活性的任何片段。

[0337] 适合的过氧化物酶包括植物、细菌或真菌来源的那些。包括化学修饰的突变体或

蛋白质工程化的突变体。有用的过氧化物酶的实例包括来自拟鬼伞属,例如来自灰盖拟鬼伞(*C.cinerea*)的过氧化物酶(EP 179,486),及其变体,如在WO 93/24618、WO 95/10602以及WO 98/15257中描述的那些。

[0338] 根据本发明的过氧化物酶还包括卤代过氧化物酶,如氯过氧化物酶、溴过氧化物酶以及展示出氯过氧化物酶或溴过氧化物酶活性的化合物。卤过氧化物酶依据它们对卤离子的特异性来分类。氯过氧化物酶(E.C.1.11.1.10)催化从氯根离子形成次氯酸盐。

[0339] 在一个实施例中,本发明的卤代过氧化物酶是氯过氧化物酶。优选地,该卤代过氧化物酶是钒卤代过氧化物酶,即含钒酸盐的卤代过氧化物酶。在本发明的优选方法中,将含钒酸盐的卤代过氧化物酶与氯根离子来源组合。

[0340] 已经从许多不同真菌,特别是从暗色丝孢菌(*dematiaceous hyphomycete*)真菌组中分离出了卤代过氧化物酶,如卡尔黑霉属(*Caldariomyces*) (例如,煤卡尔黑霉(*C.fumago*))、链格孢属、弯孢属(例如,疣枝弯孢(*C.verruculosa*)和不等弯孢(*C.inaequalis*))、内脐蠕孢属、细基格孢属以及葡萄孢属。

[0341] 还已经从细菌,如假单胞菌属(例如,吡咯假单胞菌(*P.pyrocinia*))和链霉菌属(例如,金色链霉菌(*S.aureofaciens*))中分离出了卤代过氧化物酶。

[0342] 在一个优选实施例中,该卤代过氧化物酶可源自弯孢属物种,特别是疣枝弯孢(*Curvularia verruculosa*)和不等弯孢,例如如描述于WO 95/27046中的不等弯孢CBS 102.42或描述于WO 97/04102中的疣枝弯孢CBS 147.63或疣枝弯孢CBS 444.70;或可源自如描述于WO 01/79459中的*Drechslera hartlebii*,如描述于WO 01/79458中的盐沼小树状霉(*Dendryphiella salina*)、如描述于WO 01/79461中的*Phaeotrichoconis crotalarie*或如描述于WO 01/79460中的*Geniculosporium*物种。

[0343] 根据本发明的氧化酶具体包括由酶分类EC 1.10.3.2囊括的任何漆酶或获得自其中的展示出漆酶活性的片段、或展示出类似活性的化合物,如儿茶酚氧化酶(EC 1.10.3.1)、邻氨基苯酚氧化酶(EC 1.10.3.4)或胆红素氧化酶(EC 1.3.3.5)。

[0344] 优选的漆酶是微生物来源的酶。这些酶可以获得自植物、细菌或真菌(包括丝状真菌和酵母)。

[0345] 来自真菌的适合实例包括可源自以下项的菌株的漆酶:曲霉属,脉孢菌属(例如,粗糙脉孢菌),柄孢壳菌属,葡萄孢属,金钱菌属(*Collybia*),层孔菌属(*Fomes*),香菇属,侧耳属,栓菌属(例如,长绒毛栓菌和变色栓菌),丝核菌属(例如,立枯丝核菌(*R.solani*)),拟鬼伞属(例如,灰盖拟鬼伞、毛头拟鬼伞(*C.comatus*)、弗瑞氏拟鬼伞(*C.friesii*)及*C.plicatilis*),小脆柄菇属(*Psathyrella*) (例如,白黄小脆柄菇(*P.condelleana*)),斑褶菇属(例如,蝶形斑褶菇(*P.papilionaceus*)),毁丝霉属(例如,嗜热毁丝霉),*Schytalidium*(例如,*S.thermophilum*),多孔菌属(例如,*P.pinsitus*),射脉菌属(例如,射脉侧菌(*P.radiata*)) (WO 92/01046)或革盖菌属(例如,毛革盖菌(*C.hirsutus*)) (JP 2238885)。

[0346] 来自细菌的适合实例包括可源自芽孢杆菌属的菌株的漆酶。

[0347] 优选的是获得自拟鬼伞属或毁丝霉属的漆酶;特别是获得自灰盖拟鬼伞的漆酶,如披露于WO 97/08325中;或源自嗜热毁丝霉,如披露于WO 95/33836中。

[0348] 该一种或多种洗涤剂酶可以通过添加含有一种或多种酶的单独的添加剂,或通过

添加包含所有这些酶的组合添加剂而被包括于洗涤剂组合物中。本发明的洗涤剂添加剂，即单独的或组合的添加剂，可以配制成例如颗粒、液体、浆液等，优选的洗涤剂添加剂剂型为颗粒，特别是无粉尘颗粒；液体，特别是稳定化液体；或者浆液。

[0349] 无尘颗粒例如可以如在US 4,106,991和4,661,452中所披露的那样产生并且可以任选地通过本领域已知的方法包衣。蜡状包衣材料的实例是平均分子量为1000至20000的聚(环氧乙烷)产品(聚乙二醇,PEG)；具有从16个到50个环氧乙烷单位的乙氧基化壬基酚；具有从12个至20个碳原子并且存在15至80个环氧乙烷单位的乙氧基化脂肪族醇；脂肪醇；脂肪酸；以及脂肪酸的甘油单酯、甘油二酯、和甘油三酯。适用于通过流化床技术应用的成膜包衣材料的实例在GB 1483591中给出。液体酶制剂可以例如通过根据已确立的方法添加多元醇(如丙二醇)、糖或糖醇、乳酸或硼酸而稳定化。受保护的酶可以根据EP 238,216中披露的方法来制备。

[0350] 其他材料

[0351] 还可以使用本领域中已知用于洗涤剂中的任何洗涤剂组分。其他任选的洗涤剂组分包括防腐剂、防缩剂、抗污垢再沉积剂、抗皱剂、杀细菌剂、粘合剂、腐蚀抑制剂、崩解剂(disintegrant)/崩解试剂(disintegration agent)、染料、酶稳定剂(包括硼酸、硼酸盐、CMC和/或多元醇如丙二醇)、织物整理剂(包括粘土)、填充剂/加工助剂、荧光增白剂/光学增亮剂、增泡剂、泡沫(泡)调节剂、香料、污垢助悬剂、软化剂、抑泡剂、酶暗抑制剂以及芯吸剂，单独或组合使用。可以使用本领域中已知用于洗涤剂中的任何成分。此类成分的选择完全在普通技术人员的技术范围内。

[0352] 分散剂

[0353] 本发明的洗涤剂组合物还可以含有分散剂。具体而言，粉状洗涤剂可以包含分散剂。适合的水溶性有机材料包括均聚合或共聚合的酸或其盐，其中聚羧酸包含被不多于两个碳原子彼此分开的至少两个羧基。适合的分散剂例如描述于Powdered Detergent[粉末洗涤剂], Surfactant Science Series[表面活性剂科学系列], 第71卷, 马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker, Inc)。

[0354] 污垢释放聚合物

[0355] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种污垢释放聚合物，这些聚合物帮助从织物(如棉和基于聚酯的织物)去除污垢，特别是从基于聚酯的织物去除疏水性污垢。污垢释放聚合物可以例如是基于非离子型或阴离子型对苯二甲酸的聚合物、聚乙烯基己内酰胺和相关共聚物、乙烯基接枝共聚物、聚酯聚酰胺，参见例如Powdered Detergents[粉末洗涤剂], Surfactant science series[表面活性剂科学系列]第71卷第7章, 马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker, Inc.)。另一种类型的污垢释放聚合物是包含核心结构和衔接至该核心结构的多个烷氧基化基团的两亲性烷氧基化油污清洁聚合物。核心结构可以包括聚烷基亚胺结构或聚烷醇胺结构，如WO 2009/087523中详细描述(将其通过引用结合在此)。此外，随机接枝共聚物是适合的污垢释放聚合物。适合的接枝共聚物更详细地描述于WO 2007/138054、WO 2006/108856和WO 2006/113314中(将其通过引用结合在此)。其他污垢释放聚合物是取代的多糖结构，尤其是取代的纤维素结构，如修饰的纤维素衍生物，如EP 1867808或WO 2003/040279中描述的那些(将二者都通过引用结合在此)。适合的纤维素聚合物包括纤维素、纤维素醚、纤维素酯、纤维素酰胺及其混合物。适合的纤维素聚合

物包括阴离子修饰的纤维素、非离子修饰的纤维素、阳离子修饰的纤维素、两性离子修饰的纤维素及其混合物。适合的纤维素聚合物包括甲基纤维素、羧甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、酯羧甲基纤维素及其混合物。

[0356] 抗再沉积剂

[0357] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种抗再沉积剂，如羧甲基纤维素(CMC)、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚氧乙烯和/或聚乙二醇(PEG)、丙烯酸的均聚物、丙烯酸和马来酸的共聚物、和乙氧基化的聚乙亚胺。在以上污垢释放聚合物下描述的基于纤维素的聚合物还可以用作抗再沉积剂。抗再沉积剂不同于具有DNA酶活性的酶。

[0358] 流变改性剂

[0359] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种流变改性剂、结构剂或增稠剂，不同于降粘剂。流变改性剂选自下组，该组由以下组成：非聚合物结晶、羟基功能材料、聚物流变改性剂，它们为液体洗涤剂组合物的水性液相基质赋予剪切稀化特征。可以通过本领域已知的方法修饰和调整洗涤剂的流变学和粘度，例如如在EP 2169040 中所示。

[0360] 其他适合的辅料包括但不限于防缩剂、抗皱剂、杀细菌剂、粘合剂、载体、染料、酶稳定剂、织物柔软剂、填充剂、泡沫调节剂、助水溶剂、香料、色素、抑泡剂、溶剂以及用于液体洗涤剂的结构剂和/或结构弹性剂。

[0361] 洗涤剂产品的配制品

[0362] 本发明的洗涤剂组合物可以处于任何合宜的形式，例如，条，均质片剂，具有两个或更多个层的片剂，具有一个或多个隔室的袋，常规或压型粉末，颗粒，糊剂，凝胶或常规、压型或浓缩液体。

[0363] 袋可以被配置为单个或多个隔室。它可以具有适合保持该组合物的任何形式、形状和材料，例如在与水接触之前，不允许该组合物从袋中释放出来。该袋由水溶性薄膜制成，它包含了一个内部体积。所述内部体积可以分成袋的隔室。优选的膜是高分子材料，优选被制成膜或薄片的形式的聚合物。优选的聚合物、共聚物或其衍生物选自聚丙烯酸酯、和水溶性丙烯酸酯共聚物、甲基纤维素、羧甲基纤维素、糊精钠、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、麦芽糊精、聚甲基丙烯酸酯，最优选地是聚乙烯醇共聚物以及羟丙基甲基纤维素(HPMC)。优选地，聚合物在膜例如PVA 中的水平是至少约60%。优选的平均分子量将典型地是约20,000至约150,000。膜还可以是共混组合物，该共混组合物包含可水解降解并且水可溶的聚合物共混物，如聚乳酸和聚乙烯醇(已知在贸易参考号M8630下，如由美国印第安纳州的MonoSol 有限责任公司出售)加增塑剂，像甘油、乙二醇、丙二醇、山梨醇及其混合物。这些袋可以包含固体衣物清洁组合物或部分组分和/或液体清洁组合物或由水溶性膜分开的部分组分。用于液体组分的室在组成上可以与含有固体的室不同：US 2009/0011970 A1。

[0364] 可以由水可溶的袋中或片剂的不同层中的隔室来将洗涤剂成分物理地彼此分开。因此，可以避免组分间的不良的存储相互作用。在洗涤溶液中，每个室的不同溶解曲线还可以引起选择的组分的延迟溶解。

[0365] 非单位剂量的液体或凝胶洗涤剂可以是水性的，典型地含有按重量计至少20%并且高达95%的水，如高达约70%的水、高达约65%的水、高达约55%的水、高达约45%的

水、高达约35%的水。包括但不限于链烷醇、胺、二醇、醚以及多元醇的其他类型的液体可以被包括在水性液体或凝胶中。水性液体或凝胶洗涤剂可以含有从 0-30%的有机溶剂。

[0366] 液体或凝胶洗涤剂可以是非水性的。

[0367] 洗衣皂条

[0368] 本发明的DNA酶可以被添加至洗衣皂条中并且用于手洗洗衣、织物和/或纺织品。术语衣物皂条包括衣物条、皂条、组合条 (combo bar)、合成洗涤剂条以及洗涤剂条。条的类型通常区别在于它们含有的表面活性剂的类型,并且术语衣物皂条包括含有来自脂肪酸的皂和/或合成皂的那些。衣物皂条具有在室温下为固体而非液体、凝胶或粉末的物理形式。术语固体被定义为不随时间显著变化的物理形式,即如果固体物体(例如,衣物皂条)被置于容器里,该固体物体不会为了填充其被放置的容器而发生 改变。该条是固体时典型地是条的形式但也可能是其他的固体形状如圆形或椭圆。

[0369] 该衣物皂条可以含有一个或多个另外的酶、蛋白酶抑制剂如肽醛类(或次硫酸盐加合物或半缩醛加合物)、硼酸、硼酸盐、硼砂和/或苯基硼酸衍生物如4-甲酸基本硼酸、一个或多个皂或合成的表面活性剂、多元醇如甘油、pH控制化合物如脂肪酸、柠檬酸、乙酸和/或甲酸、和/或一价阳离子和有机阴离子的盐,其中该一价阳离子可以是例如 Na^+ 、 K^+ 或 NH_4^+ 并且该有机阴离子可以是例如甲酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐 或乳酸盐,因此该一价阳离子和有机阴离子的盐可以是例如甲酸钠。

[0370] 洗涤皂条还可以含有络合剂像EDTA和HEDP、香料和/或不同类型的填充剂、表面活性剂例如阴离子型合成表面活性剂、助洗剂、聚合的污垢释放剂、洗涤剂螯合剂、稳定剂、填充剂、染料、着色剂、染料转移抑制剂、烷氧基化的聚碳酸酯、抑泡剂、结构剂、粘合剂、浸出剂、漂白活化剂、粘土去污剂、抗再沉积剂、聚合分散剂、增亮剂、织物柔软剂、香料和/或本领域已知的其他化合物。

[0371] 洗涤皂条可以在常规的洗涤皂条制造设备中进行加工,如但不限制于:混合器、压条机例如双级真空压条机、挤出机、切割机、标识压模机 (logo-stamper)、冷却隧道以及包装机。本发明不局限于通过任何单一方法制备洗涤皂条。可以在过程的不同阶段向皂中添加本发明的预混料。例如,可以制备含有皂、DNA酶、任选地一种或多种另外的酶、蛋白酶抑制剂以及一价阳离子和有机阴离子的盐的预混料并且然后将该混合物压条。可以同时添加作为例如处于液态的蛋白酶抑制剂的DNA酶以及任选的另外的酶。除了混合步骤和出条步骤,该工艺可以进一步包含以下步骤:研磨、挤出、切割、冲压、冷却和/或封装。

[0372] 共颗粒中酶的配制品

[0373] 该DNA酶可以被配制为颗粒,例如,配制为结合一种或多种酶的共颗粒。然后,每种酶将存在于多种颗粒中,这些颗粒确保酶在洗涤剂中的分布更均匀。这还减少了由于不同的粒度,不同酶的物理隔离。用于生产针对洗涤剂工业的多酶共颗粒的方法披露于IP.com披露IPCOM000200739D中。

[0374] 通过使用共颗粒的酶的配制品的另一个实例披露于W0 2013/188331中,其涉及包括以下各项的洗涤剂组合物:(a)多酶共颗粒;(b)少于10wt沸石(无水基底);和(c)少于10wt磷酸盐(无水基底),其中所述酶共颗粒包含从10至98wt%的水分汇组分,并且该组合物另外还包含从20至80wt%的洗涤剂水分汇组分。

[0375] W0 2013/188331还涉及处理和/或清洁表面的方法,优选织物表面,该方法包括

以下步骤：(i) 将所述表面与在含水洗液中如在此要求保护的并且描述的洗涤剂组合 物接触，(ii) 冲洗和/或干燥该表面。

[0376] 该多酶共颗粒可以包含DNA酶和 (a) 选自下组的一种或多种酶，该组由以下组 成：首次洗涤脂肪酶、清洁纤维素酶、木葡聚糖酶、过水解酶、过氧化物酶、脂氧合 酶、漆酶及其混合物；和 (b) 选自下组的一种或多种酶，该组由以下组成：半纤维素 酶、蛋白酶、护理纤维素酶、纤维二糖脱氢酶、木聚糖酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、木质 酶、普鲁兰酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、地衣聚糖酶、葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、玻璃酸 酶、软骨素酶、淀粉酶、及其混合物。

[0377] 在以下各段中进一步概述本发明：

[0378] 1. 一种用于洗涤被生物膜和/或蛋白质污渍弄脏的纺织品的的方法，该方法包括 以下步骤：

[0379] a) 将纺织品与包含具有DNA酶活性的酶、蛋白酶和表面活性剂的洗液接触；以及

[0380] b) 任选地冲洗该纺织品，

[0381] 其中具有DNA酶活性的该酶和蛋白酶能够从纺织品减少和/或去除生物膜。

[0382] 2. 根据段落1所述的方法，该纺织品包含至少20% 聚酯。

[0383] 3. 根据段落1或2中任一项所述的方法，其中该纺织品包含至少25% 聚酯、至 少30% 聚酯、至少35% 聚酯、至少40% 聚酯、至少45% 聚酯、至少50% 聚酯、至 少55% 聚酯、至 少60% 聚酯或至少65% 聚酯。

[0384] 4. 根据前述段落中任一项所述的方法，其中防止和/或减少了污垢的再沉积。

[0385] 5. 根据前述段落中任一项所述的方法，其中该纺织品的白度得到改进。

[0386] 6. 根据前述段落中任一项所述的方法，其中在洗涤之后纺织品上存在的生物膜 的量被减少。

[0387] 7. 根据段落6所述的方法，其中生物膜由短波单胞菌属物种产生或部分产生。

[0388] 8. 根据前述段落中任一项所述的方法，其中该洗液进一步包含选自下组的一种 或多种酶，该组由以下组成：半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、纤维素酶、木聚糖 酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚 氧化酶、脂加氧酶、木质酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、聚戊糖酶、 马拉纳酶、 β -葡聚糖酶、阿拉伯 糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、叶绿素酶、淀粉酶、过水解酶、过氧化物酶和黄原胶 酶。

[0389] 9. 根据前述段落中任一项所述的方法，其中步骤b) 包括用水或包含调理剂的 水 冲洗纺织品

[0390] 10. 根据前述段落中任一项所述的方法，其中该具有DNA酶活性的酶是动物、植物 或微生物来源的。

[0391] 11. 根据段落10所述的方法，其中该多肽是细菌或真菌来源的。

[0392] 12. 根据段落10-11中任一项所述的方法，其中该具有DNA酶活性的酶选自下 组， 该组由以下组成：与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的 酶、与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO: 3的氨基酸序列具 有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具 有至少60%的序列一致性 的酶、与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少60%的序列 一致性的酶和与SEQ ID NO:6的

氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶。

[0393] 13. 根据段落12所述的方法,其中该酶与SEQ ID NO:1的氨基酸序列、SEQ ID NO:2的氨基酸序列、SEQ ID NO:3的氨基酸序列、SEQ ID NO:4的氨基酸序列、SEQ ID NO:5的氨基酸序列或SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性。

[0394] 14. 根据段落13所述的方法,其中该酶与SEQ ID NO:1的氨基酸序列、SEQ ID NO:2的氨基酸序列或SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性。

[0395] 15. 根据前述段落中任一项所述的方法,其中该蛋白酶

[0396] a) 是酶变体,该酶变体在对应于SEQ ID NO:7的成熟多肽的位置9、15、43、68、76、99、101、167、170、194、205、206、209、217、218、222、245、261和262的一个或多个位置处包含改变,其中每个改变独立地是取代、缺失或插入,并且该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0397] b) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:8的氨基酸序列;

[0398] c) 是酶变体,该酶变体包含选自SEQ ID NO:8的成熟多肽的S85N的取代,其中该变体具有蛋白酶活性;或

[0399] d) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

[0400] 16. 根据前述段落中任一项所述的方法,其中该蛋白酶是包含选自下组的一个或多个取代的酶变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:7的S9E、S9R、A15T、V68A、N76D、S99G、S99A、S101E、S101N、Y167A、R170S、A194P、V205I、Q206L、Y209W、L217D、L217Q、N218D、M222S、Q245R、N261W、L262E Y167A+R170S+ A194P、S99SE和S9R+A15T+V68A+N218D+Q245R,或者其中该蛋白酶是选自下组的以下蛋白酶的任一种,该组由以下组成:

[0401] (a) 蛋白酶,该蛋白酶包含显示在SEQ ID NO:8中的氨基酸序列或包含显示在SEQ ID NO 7中的氨基酸序列;

[0402] (b) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含取代S87N,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0403] (c) 蛋白酶,该蛋白酶包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;

[0404] (d) 蛋白酶,该蛋白酶包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;

[0405] (e) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性;

[0406] (f) 蛋白酶变体,其中该变体优选地在选自以下列表的一个或多个位置处包含修饰,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261和262,其中该变体具有蛋白酶活性并

且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100% 的序列一致性;

[0407] (g) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]和X262[E,D],其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于 BPN' (SEQ ID NO 7) 位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;以及

[0408] (h) 蛋白酶,与前体(即亲本蛋白酶)相比,该蛋白酶包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

[0409] i. X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,

[0410] ii. X9R+X15T+X68A+X245R,

[0411] iii. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0412] iv. X61D+X205I+X245R,

[0413] v. X61E+X194P+X205I+X261D,

[0414] vi. X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0415] vii. X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,

[0416] viii. X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,

[0417] ix. X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,

[0418] x. X103A+X104I,

[0419] xi. X22R+X101G+X232V+X245R,

[0420] xii. X103A+X104I+X156D,

[0421] xiii. X103A+X104I+X261E,

[0422] xiv. X62D+X245R,

[0423] xv. X101N+X128A+X217Q,

[0424] xvi. X101E+X217Q,

[0425] xvii. X101E+X217D,

[0426] xviii. X9E+X43R+X262E,

[0427] xix. X76D+X43R+X209W,

[0428] xx. X205I+X206L+X209W,

[0429] xxi. X185E+X188E+X205I,

[0430] xxii. X256D+X261W+X262E,

[0431] xxiii. X191N+X209W,

[0432] xxiv. X261E+X262E,

[0433] xxv. X261E+X262D,和

[0434] xxvi. X167A+X170S+X194P,

[0435] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶优选地与SEQ ID NO

7、8或9具有至少80%但小于100%的序列一致性。

[0436] 17. 根据段落16所述的方法,其中该酶变体包含SEQ ID NO:7的以下取代 Y167A+R170S+A194P。

[0437] 18. 根据段落17所述的方法,其中该具有DNA酶活性的酶与SEQ ID NO:1的多肽具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶是包含SEQ ID NO:7的以下取代Y167A+R170S+A194P的酶变体。

[0438] 19. 根据前述段落中任一项所述的方法,其中洗液中的酶的浓度是在 0.00004-100ppm酶蛋白的范围内,如在0.00008-100的范围内,在0.0001-100的范围内,在0.0002-100的范围内,在0.0004-100的范围内,在0.0008-100的范围内,在 0.001-100ppm酶蛋白的范围内,在0.01-100ppm酶蛋白的范围内,在0.05-50ppm酶蛋白的范围内,在0.1-50ppm酶蛋白的范围内,在0.1-30ppm酶蛋白的范围内,在 0.5-20ppm酶蛋白的范围内或在0.5-10ppm酶蛋白的范围内。

[0439] 20. 根据前述段落中任一项所述的方法,其中该洗液包含根据段落38-54所述的洗涤剂组合物。

[0440] 21. 具有DNA酶活性的酶和蛋白酶用于洗涤被生物膜和/或蛋白质污渍弄脏的纺织品的用途,其中该具有DNA酶活性的酶和蛋白酶在洗涤循环期间能够从纺织品减少和/或去除生物膜。

[0441] 22. 根据段落21所述的用途,其中该纺织品包含至少20%聚酯。

[0442] 23. 根据段落21-22中任一项所述的用途,其中该纺织品包含至少25%聚酯、至少30%聚酯、至少35%聚酯、至少40%聚酯、至少45%聚酯、至少50%聚酯、至少55%聚酯、至少60%聚酯或至少65%聚酯。

[0443] 24. 根据段落23所述的用途,其中该纺织品包含50%的聚酯和50%的棉。

[0444] 25. 根据前述用途段落中任一项所述的用途,其中防止和/或减少了再沉积。

[0445] 26. 根据前述段落中任一项的用途,其中该纺织品的白度得到改进。

[0446] 27. 根据前述用途段落中任一项所述的用途,其中在洗涤之后纺织品上存在的生物膜的量被减少。

[0447] 28. 根据前述用途段落中任一项所述的用途,其中该生物膜由短波单胞菌属物种产生或部分产生。

[0448] 29. 根据前述用途段落中任一项所述的用途,其中该具有DNA酶活性的酶是动物、植物或微生物来源的。

[0449] 30. 根据段落29所述的用途,其中该多肽是细菌或真菌来源的。

[0450] 31. 根据段落30所述的用途,其中该具有DNA酶活性的多肽选自下组,该组由以下组成:与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶和与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶。

[0451] 32. 根据段落31所述的用途,其中该多肽与SEQ ID NO:1的多肽、SEQ ID NO:2的多肽、SEQ ID NO:3的多肽、SEQ ID NO:4的多肽、SEQ ID NO:5的多肽或SEQ ID NO:6的多肽

具有至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性。

[0452] 33. 根据前述用途段落中任一项所述的用途,其中该蛋白酶

[0453] a) 是酶变体,该酶变体在对应于SEQ ID NO:7的成熟多肽的位置9、15、43、68、76、99、101、167、170、194、205、206、209、217、218、222、245、261和262的一个或多个位置处包含改变,其中每个改变独立地是取代、缺失或插入,并且该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0454] b) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:8的氨基酸序列;

[0455] c) 是酶变体,该酶变体包含选自SEQ ID NO:8的成熟多肽的S85N的取代,其中该变体具有蛋白酶活性;或

[0456] d) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:9的氨基酸序列;或

[0457] e) 蛋白酶,该蛋白酶包含显示在SEQ ID NO:8中的氨基酸序列或包含显示在SEQ ID NO 7中的氨基酸序列;或

[0458] f) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含取代S87N,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0459] g) 蛋白酶,该蛋白酶包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;或

[0460] h) 是蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中该变体具有蛋白酶活性,其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0461] i) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性;或

[0462] j) 是蛋白酶变体,其中该变体优选地在选自以下列表的一个或多个位置处包含修饰,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261和262,其中这些位置对应于SEQ ID NO 7中的位置,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0463] k) 是蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]、X262[E,D],其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,其中该变体具有蛋白酶活性并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%的序列一致性;或

[0464] l) 蛋白酶,与前体(即亲本蛋白酶)相比,该蛋白酶包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

- [0465] i. X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,
- [0466] ii. X9R+X15T+X68A+X245R,
- [0467] iii. X61E+X194P+X205I+X261D,
- [0468] iv. X61D+X205I+X245R,
- [0469] v. X61E+X194P+X205I+X261D,
- [0470] vi. X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,
- [0471] vii. X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,
- [0472] viii. X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,
- [0473] ix. X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,
- [0474] x. X103A+X104I,
- [0475] xi. X22R+X101G+X232V+X245R,
- [0476] xii. X103A+X104I+X156D,
- [0477] xiii. X103A+X104I+X261E,
- [0478] xiv. X62D+X245R,
- [0479] xv. X101N+X128A+X217Q,
- [0480] xvi. X101E+X217Q,
- [0481] xvii. X101E+X217D,
- [0482] xviii. X9E+X43R+X262E,
- [0483] xix. X76D+X43R+X209W,
- [0484] xx. X205I+X206L+X209W,
- [0485] xxi. X185E+X188E+X205I,
- [0486] xxii. X256D+X261W+X262E,
- [0487] xxiii. X191N+X209W,
- [0488] xxiv. X261E+X262E,
- [0489] xxv. X261E+X262D, 和
- [0490] xxvi. X167A+X170S+X194P,
- [0491] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶优选地与SEQ ID NO 7、8或9具有至少80%但小于100%的序列一致性。
- [0492] m)
- [0493] 34. 根据段落33所述的用途,其中该酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:SEQ ID NO:7的S9E、S9R、A15T、V68A、N76D、S99G、S99A、S101E、S101N、Y167A、R170S、A194P、V205I、Q206L、Y209W、L217D、L217Q、N218D、M222S、Q245R、N261W、L262E Y167A+R170S+A194P、S99SE和 S9R+A15T+V68A+N218D+Q245R。
- [0494] 35. 根据段落34所述的用途,其中该酶变体包含SEQ ID NO:7的以下取代 Y167A+R170S+A194P。
- [0495] 36. 根据段落35所述的用途,其中该具有DNA酶活性的酶与SEQ ID NO:1的多肽具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶是包含SEQ ID NO:7的以下取代Y167A+R170S+A194P的酶变体。
- [0496] 37. 根据段落21-36中任一项所述的用途,其中使用根据段落38-54所述的洗涤剂

组合物。

[0497] 38. 一种洗涤剂组合物, 该洗涤剂组合物包含具有脱氧核糖核酸酶 (DNA酶) 活性的酶、蛋白酶、至少17% (w/w) 的阴离子表面活性剂和至少11% (w/w) 的非离子表面活性剂和助洗剂。

[0498] 39. 根据段落38所述的组合物, 其中该非离子表面活性剂选自下组, 该组由以下组成: 醇乙氧基化物 (AE或AEO)、醇丙氧基化物、丙氧基化的脂肪醇 (PFA)、烷氧基化的脂肪酸烷基酯 (如乙氧基化的和/或丙氧基化的脂肪酸烷基酯)、烷基酚乙氧基化物 (APE)、壬基酚乙氧基化物 (NPE)、烷基多糖苷 (APG)、烷氧基化胺、脂肪酸单乙醇酰胺 (FAM)、脂肪酸二乙醇酰胺 (FADA)、乙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺 (EFAM)、丙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺 (PFAM)、多羟基烷基脂肪酸酰胺、和葡萄糖胺的N-酰基N-烷基衍生物 (葡糖酰胺 (GA)、或脂肪酸葡糖酰胺 (FAGA))。

[0499] 40. 根据段落38所述的组合物, 其中该阴离子表面活性剂选自下组, 该组由以下组成: 直链烷基苯磺酸盐 (LAS)、LAS的异构体、支链烷基苯磺酸盐 (BABS)、苯基链烷磺酸盐、 α -烯烴磺酸盐 (AOS)、烯烴磺酸盐、链烯烴磺酸盐、链烷-2,3-二基双(硫酸盐)、羟基链烷磺酸盐以及二磺酸盐、烷基硫酸盐 (AS) (如十二烷基硫酸钠 (SDS))、脂肪醇硫酸盐 (FAS)、伯醇硫酸盐 (PAS)、醇醚硫酸盐 (AES或AEOS 或FES)、仲链烷磺酸盐 (SAS)、石蜡烴磺酸盐 (PS)、酯磺酸盐、磺化的脂肪酸甘油酯、 α -磺酸基脂肪酸甲酯 (α -SFMe或SES)、甲酯磺酸盐 (MES)、烷基琥珀酸或烯基琥珀酸、十二烯基/十四烯基琥珀酸 (DTSA)、氨基酸的脂肪酸衍生物、磺酸基琥珀酸的二酯和单酯或脂肪酸的盐(皂)。

[0500] 41. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物, 其中该组合物进一步包含一种或多种选自下组的酶, 该组由以下组成: 半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、裂解酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂加氧酶、木质酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、聚戊糖酶、马拉纳酶、 β -葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、叶绿素酶、淀粉酶、过水解酶、过氧化物酶和黄原胶酶。

[0501] 42. 根据段落31所述的组合物, 其中该组合物包含选自淀粉酶和裂解酶的一种或多种酶。

[0502] 43. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物, 其中该具有DNA酶活性的酶是动物、植物或微生物来源的。

[0503] 44. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物, 其中该多肽是细菌或真菌来源的。

[0504] 45. 根据段落44所述的组合物, 其中该具有DNA酶活性的酶选自下组, 该组由以下组成: 与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶、与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶和与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少60%的序列一致性的酶。

[0505] 46. 根据段落45所述的组合物, 其中该酶与SEQ ID NO:1的多肽、SEQ ID NO:2的多肽、SEQ ID NO:3的多肽、SEQ ID NO:4的多肽、SEQ ID NO:5的多肽或SEQ ID NO:6的多肽

具有至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性。

[0506] 47. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物,其中该蛋白酶

[0507] a) 是酶变体,该酶变体在对应于SEQ ID NO:7的成熟多肽的位置9、15、43、68、76、99、101、167、170、194、205、206、209、217、218、222、245、261和262的一个或多个位置处包含改变,其中每个改变独立地是取代、缺失或插入,并且该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0508] b) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:8的氨基酸序列;或

[0509] c) 是酶变体,该酶变体包含选自SEQ ID NO:8的成熟多肽的S85N的取代,其中该变体具有蛋白酶活性;或

[0510] d) 是酶,该酶对应于SEQ ID NO:9的氨基酸序列,或

[0511] e) 蛋白酶,该蛋白酶包含显示在SEQ ID NO:8中的氨基酸序列或包含显示在SEQ ID NO 7中的氨基酸序列;或

[0512] f) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含取代S87N,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0513] g) 蛋白酶,该蛋白酶包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;或

[0514] h) 是蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含以下取代Y167A+R170S+A194P,其中该变体具有蛋白酶活性,其中这些位置对应于BPN' (SEQ ID NO 7) 的位置,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0515] i) 蛋白酶变体,该蛋白酶变体在对应于W02004/067737的SEQ ID NO:1的位置171、173、175、179、或180的一个或多个位置处包含取代,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该蛋白酶变体与W02004/067737的SEQ ID NO:1具有至少75%但小于100%的序列一致性;或

[0516] j) 是蛋白酶变体,其中该变体优选地在选自以下列表的一个或多个位置处包含修饰,该列表由以下组成:3、9、22、43、61、62、76、101、103、104、120、128、185、188、191、194、205、206、209、216、217、218、232、245、256、259、261和262,其中这些位置对应于SEQ ID NO 7中的位置,其中该变体具有蛋白酶活性,并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%但小于100%的序列一致性;或

[0517] k) 是蛋白酶变体,该蛋白酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:X3V、X9[E,R]、X22[R,A]、X43R、X61[E,D]、X62[E,D]、X76[D]、X87N、X101[E,G,D,N,M]、X103A、X104I、X118[V,R]、X120V、X128[A,L,S]、X129Q、X130A、X160D、X185[E,D]、188[E,D]、X191N、X194P、X205I、X206L、X209W、X216V、X217[Q,D,E]、X218[D,E,S]、X232V、X245R、X248D、X256[E,D]、X259[E,D]、X261[E,D,W]、X262[E,D],其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,其中该变体具有蛋白酶活性并且其中该变体与SEQ ID NO 7或SEQ ID NO 8具有至少80%的序列一致性;或

[0518] l) 蛋白酶,与前体(即亲本蛋白酶)相比,该蛋白酶包含以下取代组的任一种,该亲本蛋白酶优选地选自显示在SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9中的蛋白酶,或者与它们具有至少80%的蛋白酶,其中该取代组选自下组,该组由以下组成:

- [0519] i. X9R+X15T+X68A+X218D+X245R,
- [0520] ii. X9R+X15T+X68A+X245R,
- [0521] iii. X61E+X194P+X205I+X261D,
- [0522] iv. X61D+X205I+X245R,
- [0523] v. X61E+X194P+X205I+X261D,
- [0524] vi. X87N+X118V+X128L+X129Q+X130A,
- [0525] vii. X87N+X101M+X118V+X128L+X129Q+X130A,
- [0526] viii. X76D+X87R+X118R+X128L+X129Q+X130A,
- [0527] ix. X22A+X62D+X101G+X188D+X232V+X245R,
- [0528] x. X103A+X104I,
- [0529] xi. X22R+X101G+X232V+X245R,
- [0530] xii. X103A+X104I+X156D,
- [0531] xiii. X103A+X104I+X261E,
- [0532] xiv. X62D+X245R,
- [0533] xv. X101N+X128A+X217Q,
- [0534] xvi. X101E+X217Q,
- [0535] xvii. X101E+X217D,
- [0536] xviii. X9E+X43R+X262E,
- [0537] xix. X76D+X43R+X209W,
- [0538] xx. X205I+X206L+X209W,
- [0539] xxi. X185E+X188E+X205I,
- [0540] xxii. X256D+X261W+X262E,
- [0541] xxiii. X191N+X209W,
- [0542] xxiv. X261E+X262E,
- [0543] xxv. X261E+X262D, 和
- [0544] xxvi. X167A+X170S+X194P,
- [0545] 其中这些位置对应于SEQ ID NO 7的位置,并且其中该蛋白酶与SEQ ID NO 7、8或9优选地具有至少80%但小于100%的序列一致性。
- [0546] 48. 根据段落47所述的组合物,其中该酶变体包含选自下组的一个或多个取代,该组由以下组成:SEQ ID NO:7的S9E、S9R、A15T、V68A、N76D、S99G、S99A、S101E、S101N、Y167A、R170S、A194P、V205I、Q206L、Y209W、L217D、L217Q、N218D、M222S、Q245R、N261W、L262E Y167A+R170S+A194P、S99SE和 S9R+A15T+V68A+N218D+Q245R。
- [0547] 49. 根据段落48所述的组合物,其中酶变体包含以下取代: Y167A+R170S+A194P。
- [0548] 50. 根据段落49所述的组合物,其中该具有DNA酶活性的酶与SEQ ID NO:1 的多肽具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性,并且该蛋白酶是包含SEQ ID NO:7的以下取代Y167A+R170S+A194P的酶变体。
- [0549] 51. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物,其中该组合物是液体洗涤剂、粉末洗涤剂或颗粒洗涤剂。
- [0550] 52. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物,其中该组合物是条,均匀的片

剂,具有两个或更多个层的片剂,具有一个或多个室的袋,规则的或压缩的粉末,颗粒,膏,凝胶,或规则的、压缩的或浓缩的液体。

[0551] 53. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物,其中该组合物包含每克洗涤剂组合物至少0.002mg的酶蛋白、至少0.004mg的酶蛋白、至少0.006mg的酶蛋白、至少0.008mg的酶蛋白、至少0.01mg的酶蛋白、至少0.1mg的酶蛋白、至少1mg的酶蛋白、至少10mg的酶蛋白、至少20mg的酶蛋白、至少30mg的酶蛋白、至少40mg的酶蛋白、至少50mg的酶蛋白、至少60mg的酶蛋白、至少70mg的酶蛋白、至少80mg的酶蛋白、至少90mg的酶蛋白或至少100mg的酶蛋白。

[0552] 54. 根据前述组合物段落中任一项所述的组合物,其中该组合物包含每克洗涤剂组合物在80mg-100mg范围的酶蛋白。

[0553] 测定和洗涤剂组合物

[0554] 洗涤剂组合物

[0555] 可以将以下提及的洗涤剂组合物与本发明使用的酶组合使用。

[0556] 汰渍自由与温和(液体)

[0557] 水、醇乙氧基硫酸钠、丙二醇、硼砂、乙醇、线形烷基苯磺酸钠盐、聚乙烯亚胺乙氧基化物、二乙二醇、反式硫酸化和乙氧基化的六亚甲基二胺、醇乙氧化物、线形烷基苯磺酸酯、MEA盐、甲酸钠、烷基硫酸钠、DTPA、氧化胺、甲酸钙、二氨基二苯乙烯二钠、二磺酸盐、淀粉酶、蛋白酶、二甲硅油和苯并异噻唑啉酮。

[0558] 碧浪彩色与风格

[0559] 水,C10-13烷基苯磺酸钠,柠檬酸钠,丙二醇,棕榈仁酸钠,C14-15Pareth-n、C12-14Pareth-7、MEA十二烷基苯磺酸钠、C12-15Pareth硫酸钠、月桂醇聚醚硫酸钠、硫酸化乙氧基化六亚甲基二胺季铵化物、枯烯磺酸钠、PEG/乙酸乙烯酯的共聚物、香精、甲酸钠、氢化蓖麻油、二亚乙基三胺五亚甲基磷酸钠、PEG/PPG-10/2丙基庚基醚、山梨醇、乙醇胺、香茅醇、三丙二醇、蛋白酶、香叶醇、氢氧化钠、 α -异甲基紫罗酮、氯化钙、淀粉酶、苯并异噻唑啉酮、裂解酶、二甲硅油、甲基异噻唑啉酮、氯化钠、着色剂、羟乙基纤维素、聚二甲基硅氧烷醇、PEG-2硬脂酸酯。

[0560] Biotex黑(液体)

[0561] 5%-15%的阴离子表面活性剂、<5%非离子表面活性剂、香料、酶、DMDM和乙内酰胺。

[0562] WFK IEC-A标准洗涤剂的组合物(粉末)

[0563] 成分:直链烷基苯磺酸钠8.8%、乙氧基化的脂肪醇C12-18(7E0)4.7%、钠皂3.2%、消泡剂DC2-4248S 3.9%、硅酸铝钠沸石4A 28.3%、碳酸钠11.6%、丙烯酸和马来酸的共聚物的钠盐(Sokalan CP5)2.4%、硅酸钠3.0%、羧甲基纤维素1.2%、Dequest 2066 2.8%,光学增白剂0.2%、硫酸钠6.5%、蛋白酶0.4%。

[0564] 标准洗涤剂A组合物(液体)

[0565] 成分:12%LAS、11%AE0 Biosoft N25-7(NI)、7%AEOS(SLES)、6%MPG(丙二醇)、3%乙醇、3%TEA、2.75%可可皂、2.75%大豆皂、2%甘油、2%氢氧化钠、2%柠檬酸钠、1%甲酸钠、0.2%DTMPA和0.2%PCA(所有的百分数都是w/w)

[0566] 宝莹小&强大洗涤剂组合物(液体)

[0567] 成分:15%-30%阴离子表面活性剂、非离子型表面活性剂、5%-15%皂、<5%聚羧酸酯、香料、磷酸盐、光学增亮剂

[0568] 宝莹2合1与舒适西番莲粉末

[0569] 硫酸钠、碳酸钠、十二烷基苯磺酸钠、膨润土、碳酸钠过氧化物、硅酸钠、沸石、水、柠檬酸、TAED、C12-15Pareth-7、硬脂酸、香精、丙烯酸钠/MA共聚物、纤维素胶、所修饰的玉米淀粉、氯化钠、羟乙磷酸四钠、EDTMP钙钠、苯胺吗啉三嗪基-氨基苯磺酸二钠、碳酸氢钠、苯丙基乙基聚甲基硅氧烷、丁苯基甲基丙醛、甘油硬脂酸酯、碳酸钙、聚丙烯酸钠、 α -异甲基紫罗兰酮、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、纤维素、蛋白酶、柠檬烯、PEG-75、二氧化钛、糊精、蔗糖、聚芳基磺酸钠、CI 12490、CI 45100、CI 42090、硫代硫酸钠、CI 61585。

[0570] 宝莹生物粉末

[0571] 蔗糖、山梨醇、硅酸铝、聚甲醛三聚氰胺、聚芳基磺酸钠、CI 61585、CI 45100、脂肪酶、淀粉酶、黄胞胶、羟丙基甲基纤维素、CI 12490、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、硫代硫酸钠、CI 42090、甘露聚糖酶、CI 11680、羟乙磷酸、EDTA四钠。

[0572] 宝莹生物片剂

[0573] 碳酸钠、碳酸钠过氧化物、碳酸氢钠、沸石、水、硅酸钠、月桂基硫酸钠、纤维素、TAED、十二烷基苯磺酸钠、半纤维素、木质素、月桂基葡糖苷、丙烯酸钠/MA共聚物、膨润土、氯化钠、香精、羟乙磷酸四钠、硫酸钠、聚丙烯酸钠、二甲硅油、苯胺基吗啉代三嗪基氨基芪磺酸二钠盐、十二烷基苯磺酸、三甲基硅氧基硅酸盐、碳酸钙、纤维素、PEG-75、二氧化钛、糊精、蛋白酶、所修饰的玉米淀粉、蔗糖、CI 12490、聚芳基磺酸钠、硫代硫酸钠、淀粉酶、高岭土。

[0574] 宝莹色彩护理生物粉末

[0575] 枯草杆菌蛋白酶、咪唑啉酮、己基肉桂醛、蔗糖、山梨醇、硅酸铝、聚甲醛三聚氰胺、CI 61585、CI 45100、脂肪酶、淀粉酶、黄胞胶、羟丙基甲基纤维素、CI 12490、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、硫代硫酸钠、CI 42090、甘露聚糖酶、CI 11680、羟乙磷酸、EDTA四钠。

[0576] 宝莹色彩护理生物片剂

[0577] 碳酸氢钠、碳酸钠、沸石、水、硅酸钠、十二烷基硫酸钠、纤维素胶、十二烷基苯磺酸钠、月桂基葡糖苷、氯化钠、丙烯酸钠/MA共聚物、香精、硫代乙酸钠、PVP、硫酸钠、羟乙磷酸四钠、聚丙烯酸钠、二甲硅油、膨润土、十二烷基苯磺酸、三甲基硅氧基硅酸盐、碳酸钙、纤维素、PEG-75、二氧化钛、糊精、蛋白酶、所修饰的玉米淀粉、蔗糖、硫代硫酸钠、淀粉酶、CI 74160、高岭土。

[0578] 宝莹双效胶囊生物制品

[0579] MEA-十二烷基苯磺酸、MEA-氢化椰油酸、C12-15Pareth-7、二丙二醇、水、羟乙磷酸四钠、聚乙烯醇、甘油、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、丙二醇、香精、二亚乙基三胺五亚甲基磷酸钠、山梨醇、MEA-硫酸、乙醇胺、枯草杆菌蛋白酶、乙二醇、丁苯基甲基丙醛、硼酸、(4-甲酰苯基)、己基肉桂醛、柠檬烯、芳樟醇、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、 α -异甲基紫罗兰酮、香叶醇、淀粉酶、聚合的蓝色着色剂、聚合的黄色着色剂、滑石粉、氯化钠、苯并异噻唑啉酮、甘露聚糖酶、苯酸苄铵酰胺。

[0580] 宝莹2合1与舒适晴天粉末

[0581] 硫酸钠、碳酸钠、十二烷基苯磺酸钠、膨润土、碳酸钠过氧化物、硅酸钠、沸石、水、柠檬酸、TAED、C12-15Pareth-7、香精、硬脂酸、丙烯酸钠/MA共聚物、纤维素胶、所修饰的玉米淀粉、氯化钠、羟乙磷酸四钠、EDTMP钙钠、苯胺吗啉三嗪基-氨基苯磺酸二钠、碳酸氢钠、苯丙基乙基聚甲基硅氧烷、丁苯基甲基丙醛、甘油硬脂酸酯、碳酸钙、聚丙烯酸钠、香叶醇、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、纤维素、蛋白酶、PEG-75、二氧化钛、糊精、蔗糖、聚芳基磺酸钠、CI 12490、CI 45100、CI 42090、硫代硫酸钠、CI 61585。

[0582] 宝莹小&强大2合1与舒适晴天

[0583] 水、C12-15Pareth-7、十二烷基苯磺酸钠、丙二醇、氢化椰油酸钠、三乙醇胺、甘油、TEA-氢化椰油酸酯、香精、氯化钠、聚季铵盐-10、PVP、聚合的粉色着色剂、硫酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、丁苯基甲基丙醛、苯乙烯/丙烯酸酯共聚物、己基肉桂醛、香茅醇、丁子香酚、聚乙烯醇、乙酸钠、异丙醇、聚合的黄色着色剂、十二烷基硫酸钠。

[0584] 宝莹小&强大生物制品

[0585] 水、MEA-十二烷基苯磺酸、丙二醇、月桂醇醚硫酸钠、C12-15Pareth-7、TEA-氢化椰油酸酯、MEA-柠檬酸、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、MEA-羟乙磷酸、三乙醇胺、香精、丙烯酸酯共聚物、山梨醇、MEA-硫酸、亚硫酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、丁苯基甲基丙醛、苯乙烯/丙烯酸酯共聚物、香茅醇、硫酸钠、肽、盐、来自发酵(工艺)的糖、枯草杆菌蛋白酶、甘油、硼酸、(4-甲酰苯基)、香叶醇、果胶裂解酶、淀粉酶、十二烷基硫酸钠、甘露聚糖酶、CI 42051。

[0586] 宝莹小&强大胶囊生物制品

[0587] MEA-十二烷基苯磺酸、MEA-氢化椰油酸、C12-15Pareth-7、二丙二醇、水、甘油、聚乙烯醇、香精、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、二亚乙基三胺五亚甲基磷酸钠、丙二醇、山梨醇、MEA-硫酸、乙醇胺、枯草杆菌蛋白酶、乙二醇、丁苯基甲基丙醛、己基肉桂醛、淀粉、硼酸、(4-甲酰苯基)、柠檬烯、芳樟醇、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、 α -异甲基紫罗兰酮、香叶醇、淀粉酶、滑石粉、聚合的蓝色着色剂、氯化钠、苯并异噻唑啉酮、苯酸苄铵酰胺、聚合的黄色着色剂、甘露聚糖酶。

[0588] 宝莹小&强大胶囊色彩护理

[0589] MEA-十二烷基苯磺酸、MEA-氢化椰油酸、C12-15Pareth-7、二丙二醇、水、甘油、聚乙烯醇、香精、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、二亚乙基三胺五亚甲基磷酸钠、丙二醇、MEA-硫酸、乙醇胺、PVP、山梨醇、丁苯基甲基丙醛、枯草杆菌蛋白酶、己基肉桂醛、淀粉、柠檬烯、芳樟醇、硼酸、(4-甲酰苯基)、 α -异甲基紫罗兰酮、香叶醇、滑石粉、聚合的蓝色着色剂、苯酸苄铵酰胺、聚合的黄色着色剂。

[0590] 宝莹小&强大色彩护理

[0591] 水、MEA-十二烷基苯磺酸、丙二醇、月桂醇醚硫酸钠、C12-15Pareth-7、TEA-氢化椰油酸酯、MEA-柠檬酸、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、MEA-羟乙磷酸、三乙醇胺、香精、丙烯酸酯共聚物、山梨醇、MEA-硫酸、亚硫酸钠、甘油、丁苯基甲基丙醛、香茅醇、硫酸钠、肽、盐、来自发酵(工艺)的糖、苯乙烯/丙烯酸酯共聚物、枯草杆菌蛋白酶、硼酸、(4-甲酰苯基)、香叶醇、果胶裂解酶、淀粉酶、十二烷基硫酸钠、甘露聚糖酶、CI 61585、CI 45100。

[0592] 宝莹小&强大洗涤剂组合物(液体)

[0593] 成分:15%-30%阴离子表面活性剂、非离子型表面活性剂、5%-15%皂、<5%聚

羧酸酯、香料、磷酸盐、光学增亮剂

[0594] 宝莹Megaperls组合物(粉末)

[0595] 成分:以下的15%-30%:阴离子表面活性剂、基于氧的漂白剂和沸石,以下的少于5%:非离子表面活性剂、磷酸盐、聚羧酸盐、肥皂、另外成分:香料、己基肉桂醛、水杨酸苄酯、芳樟醇、光学增亮剂、酶和香茅醇。

[0596] HEY SPORT纺织品洗涤剂

[0597] 水、十二烷基苯磺酸、月桂醇聚醚-11、peg-75羊毛脂、丙二醇、改性醇、大豆油酸钾、氢氧化钾、椰油两性二乙酸二钠、乙二胺三乙椰子烷基酰胺、香精、蓖麻醇酸锌、氯化钠、苯并异噻唑啉酮、甲基异噻唑啉酮、ci 16255、苯甲醇。

[0598] 碧浪灵敏性白色与彩色衣物洗涤剂组合物、液体洗涤剂组合物

[0599] 水、酒精乙氧基硫酸盐、醇乙氧基化物、氨基氧化物、柠檬酸、C12-18拔顶棕桐仁脂肪酸、蛋白酶、糖苷酶、淀粉酶、乙醇、1,2丙二醇、甲酸钠、氯化钙、氢氧化钠、有机硅乳液、跨硫酸EHDQ(这些成分以递减次序列出)。

[0600] 碧浪Actilift组合物(液体)

[0601] 成分:5%-15%阴离子表面活性剂;<5%非离子型表面活性剂、磷酸盐、肥皂;酶、光学增亮剂、苯并异噻唑啉酮、甲基异噻唑啉酮、香料、 α -异甲基紫罗兰酮、香茅醇、香叶醇、芳樟醇。

[0602] 碧浪Actilif组合物(粉末)

[0603] 成分:15%-30%阴离子表面活性剂、<5%非离子表面活性剂、磷酸盐、聚羧酸盐、沸石;酶、香料、己基肉桂醛。

[0604] 标准洗涤剂T组合物(粉末)

[0605] 成分:11%LAS、2%AS/AEOS、2%肥皂、3%AEO、15.15%碳酸钠、3%硅酸钠、18.75%沸石、0.15%螯合剂、2%柠檬酸钠、1.65%AA/MA共聚物、2.5%CMC和0.5%SRP(所有的百分数都是w/w)。

[0606] 标准洗涤剂X组合物(粉末)

[0607] 成分:16.5%LAS、15%沸石、12%二硅酸钠、20%碳酸钠、1% sokalan、35.5% 硫酸钠(所有的百分数都是w/w)。

[0608] 汰渍液体,原版:

[0609] 成分:线形烷基苯磺酸酯、丙二醇、柠檬酸、氢氧化钠、硼砂、乙醇胺、乙醇、醇硫酸盐、聚乙烯亚胺乙氧基化物、脂肪酸钠、乙氧基硫酸二季铵盐、蛋白酶、二乙二乙醇、月桂醇聚醚-9、烷基二甲胺氧化物、香味、淀粉酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、DTPA、甲酸钠、甲酸钙、聚乙二醇4000、甘露聚糖酶、Liquitint™蓝、二甲硅油。汰渍冷水液体,清香型:

[0610] 水、醇乙氧基硫酸酯、线形烷基苯磺酸酯、二乙二乙醇、丙二醇、乙醇胺、柠檬酸、硼砂、醇硫酸盐、氢氧化钠、聚乙烯亚胺、乙氧基化物、脂肪酸钠、乙醇、蛋白酶、月桂醇聚醚-9、乙氧基硫酸二季铵盐、月桂基胺氧化物、异丙苯钠、磺酸盐、香味、DTPA、淀粉酶、二钠、二氨基二苯乙烯、二磺酸盐、甲酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸钠、甲酸钙、聚乙二醇4000、甘露聚糖酶、果胶酶、Liquitint™蓝、二甲硅油

[0611] 液体汰渍加漂白剂Alternative™,生动白和鲜艳、最初以及清洁微风:

[0612] 水、醇乙氧基硫酸钠、烷基硫酸钠、MEA柠檬酸、线形烷基苯磺酸酯、MEA盐、丙二

醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物、乙醇、脂肪酸钠、乙醇胺、月桂基胺氧化物、硼砂、月桂醇聚醚-9、DTPA、枯烯磺酸钠、甲酸钠、甲酸钙、线形烷基苯磺酸酯、钠盐、醇硫酸盐、氢氧化钠、乙氧基硫酸二季铵盐、香味、淀粉酶、蛋白酶、甘露聚糖酶、果胶酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、苯并异噻唑啉酮、Liquitint™蓝、二甲硅油、二丙基乙四胺。

[0613] 汰渍简单洁净与清新：

[0614] 水、醇乙氧化物硫酸盐、线形烷基苯磺酸钠/Mea盐、丙二醇、二乙二醇、甲酸钠、乙醇、硼砂、脂肪酸钠、香味、月桂基胺氧化物、DTPA、聚乙烯胺乙氧基化物、甲酸钙、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、二甲硅油、四胺、Liquitint™蓝。

[0615] 汰渍舱，海雾，神秘森林，春天牧场：

[0616] 线形烷基苯磺酸酯、C12-16Pareth-9、丙二醇、醇乙氧基硫酸酯、水、聚乙烯亚胺乙氧基化物、甘油、脂肪酸盐、PEG-136聚乙酸乙烯酯、乙二胺琥珀酸盐、单乙醇胺柠檬酸、亚硫酸氢钠、乙二烯三胺五乙酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、甲酸钙、甘露聚糖酶、木葡聚糖酶、甲酸钠、氢化蓖麻油、natalase、染料、termamyl、枯草杆菌蛋白酶、苯并异噻唑啉、香料。

[0617] 汰渍去污笔(Tide to Go)：

[0618] 去离子水、二丙二醇丁基醚、烷基硫酸钠、过氧化氢、乙醇、硫酸镁、烷基二甲基氧化胺、柠檬酸、氢氧化钠、三甲氧基苯甲酸、香味。

[0619] 汰渍污渍释放液体：

[0620] 水、烷基乙氧基化物、直链烷基苯磺酸盐、过氧化氢、乙氧基硫酸二季铵盐、乙醇胺、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、四丁基乙叉基双酚、F&DC黄3、香味。

[0621] 汰渍污渍释放粉末：

[0622] 过碳酸钠、硫酸钠、碳酸钠、铝硅酸钠、壬酰氧基苯磺酸盐、聚丙烯酸钠、水、烷基苯磺酸钠、DTPA、聚乙二醇、棕榈酸钠、淀粉酶、蛋白酶、修饰的淀粉、FD&C 蓝1、香味。

[0623] 汰渍污渍释放，预处理器喷雾：

[0624] 水、烷基乙氧基化物、MEA硼酸盐、直链烷基苯磺酸盐、丙二醇、乙氧基硫酸二季铵盐、氯化钙酶、蛋白酶、乙醇胺、苯并异噻唑啉酮、淀粉酶、柠檬酸钠、氢氧化钠、香味。

[0625] 汰渍去污渍橡皮擦：

[0626] 水、烷基氧化胺、二丙二醇苯基醚、过氧化氢、柠檬酸、乙二胺二琥珀酸钠盐、烷基硫酸钠、香味。

[0627] 汰渍氧化加强：

[0628] 碳酸氢钠、碳酸钠、过碳酸钠、醇乙氧化物、氯化钠、马来酸/丙烯酸共聚物、壬酰氧基苯磺酸盐、硫酸钠、着色剂、乙二烯三胺五乙酸钠盐、水合硅铝酸盐(沸石)、聚乙二醇、烷基苯磺酸钠、棕榈酸钠、淀粉、水、香味。

[0629] 超级汰渍自由粉状洗涤剂：

[0630] 碳酸钠、铝硅酸钠、烷基硫酸盐、硫酸钠、线形烷基苯磺酸酯、水、聚丙烯酸钠、硅酸盐、乙氧基化物、过碳酸钠、聚乙二醇4000、蛋白酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、硅胶、纤维素酶。

[0631] 洗涤测定

[0632] Terg-O-tometer (TOM) 洗涤测定

[0633] Tergo-To-Meter (TOM) 是一种中等规模标准洗涤系统,它可以应用于同时测试 12 种不同洗涤条件。TOM基本上是具有多达12个开放金属烧杯淹没至其中的 温度受控的水浴。每个烧杯构成一个小的顶部加载型洗衣机并且在实验期间,它们中 的每一者将含有特定洗涤剂/酶系统的溶液并且对弄脏的和未弄脏的织物测试其性能。通过旋转搅拌臂获得机械应力,该旋转搅拌臂搅拌在每个烧杯内的液体。因为 TOM杯子不含盖子,所以有可能在TOM实验期间收回样品并且在洗涤期间在线分析 信息。

[0634] TOM标准洗涤系统主要用于清洁剂和酶的中等规模测试,在例如US或LA/AP 洗涤条件下。在一个TOM实验中,因素如压载物与污垢的比率和织物与洗液的比率 可以变化。因此,TOM提供了在小规模实验(如AMSA和微型洗涤)与在顶部加载 型洗衣机中的更费时的全规模实验之间的联系。

[0635] 设备:水浴具有12个钢制烧杯并且每个烧杯1个旋转臂,每个烧杯的容量是600 或1200mL的洗涤剂溶液。温度范围是从5℃至80℃。水浴应当用去离子水填充。转速可以设定为70至120rpm/min。

[0636] 设定Terg-0-Tometer中的温度并且开始在水浴中旋转。等待温度调整(公差是 +/-0,5℃)

[0637] 应该对所有烧杯进行清洁并且不含微量先前测试物质。

[0638] 在一个桶中制备具有所希望的量的洗涤剂、温度和水硬度的洗涤溶液。在磁体搅拌10min期间使洗涤剂溶解。洗液应在制备后30至60分钟内使用。

[0639] Launder-0-Meter (LOM) 标准洗涤系统

[0640] Launder-0-Meter (LOM) 是中等规模标准洗涤系统,它可以应用于同时测试多 达20种不同洗涤条件。LOM基本上是具有20个封闭金属烧杯在其中旋转的 温度受控的水浴。每个烧杯构成一个小的洗衣机并且在一次实验过程中,每个试管将 含有一种具有特定的有待测试的洗涤剂/酶系统连同在关于其进行测试的弄脏的和未 弄脏的织物。机械压力由在水浴中旋转的烧杯并且由包括在烧杯中的金属球实现。

[0641] LOM标准洗涤系统主要在欧洲洗涤条件下用于洗涤剂和酶的中等规模测试。在LOM实验中,因素如压载物与污垢的比率和织物与洗液的比率可以变化。因此,LOM 提供了在小规模实验(如AMSA和微型洗涤)与在前面加载型洗衣机中的更费时的 全规模实验之间的联系。

[0642] 酶测定

[0643] 测定I

[0644] DNA酶活性的测试

[0645] 在具有甲基绿(BD公司,富兰克林湖,新泽西州,美国)的DNA酶测试琼脂 上确定DNA酶活性。简言之,将21g琼脂溶于500ml水中,并且然后在121℃下 高压灭菌15min。将高压蒸汽处理的琼脂在水浴中温和至48℃,并且将20ml的琼脂 倒入培养皿并且允许在室温下通过孵育来固化。在固化的琼脂平板上,添加5 μ l的酶 溶液,并且DNA酶活性被观察为斑点酶溶液周围的无色区域。

[0646] 测定II

[0647] 洗涤性能表示为 Δ 反射(remission)值(Δ Rem)。洗涤并冲洗之后,将小块布样摊开 铺平并且允许在室温下风干过夜。在洗涤的次日评估所有洗涤。使用具有非常小孔径

的Macbeth Color Eye 7000反射分光光度计进行小块布样的光反射评估。在入射光中没有UV的情况下进行测量并且提取460nm处的反射。在未洗涤的和洗涤的小块布样上进行测量。将有待测量的测试小块布样置于相同类型和颜色的另一个小块布样的顶部(成对小块布样)。每个烧杯中仅有每一种的一个小块布样,以此方式使用来自复制洗涤的一个小块布样。通过从洗涤的小块布样的反射值中减去未洗涤的小块布样的反射值计算各个小块布样的反射值。每个染污的小块布样组的总洗涤性能计算为单个反射的总和。

[0648] 通过取得来自用酶洗涤的小块布样的测量值并且与来自未用酶洗涤的小块布样的测量值相减来计算针对每种污渍的酶效果。全部酶性能计算为单个 $\Delta R_{\text{酶}}$ 的总和。实例

[0649] 实例1

[0650] 分离衣物特定细菌菌株

[0651] 在本实例中使用分离自衣物的短波单胞菌属物种的一种菌株。在研究期间分离短波单胞菌属物种,其中调研分别在15°C、40°C和60°C下洗涤后衣物中的细菌多样性。在从丹麦家庭收集的衣物上进行该研究。对于每种洗涤,使用范围为4:3:2:2:1:1:1的20g的衣物(茶巾、毛巾、洗碗布、背带裤、打底T恤、T恤领、袜子)。在15°C、40°C或60°C下于Laundr-O-Meter (LOM)中进行洗涤。对于15°C和40°C下的洗涤,使用碧浪灵敏性白色与彩色衣物洗涤剂(Ariel Sensitive White&Color),而对于60°C下的洗涤,使用WFK IEC-A*标准洗涤剂。通过称出5.1g并添加自来水直到1000ml,随后搅拌5分钟来制备碧浪灵敏性白色与彩色衣物洗涤剂。通过称出5g并添加自来水直到1300ml,随后搅拌15min来制备WFK IEC-A*标准洗涤剂(该WFK IEC-A*标准洗涤剂可从WFK测试织物有限公司(WFK Testgewebe GmbH)获得)。分别在15°C、40°C和60°C下进行洗涤1小时,随后在15°C下用自来水冲洗2次持续20min。

[0652] 分别在15°C、40°C和60°C下洗涤后立即对衣物进行取样。向二十克的衣物中添加0.9% (w/v) NaCl (1.06404;默克公司(Merck),达姆施塔特,德国)与0.5% (w/w) tween 80,以在匀质器(stomacher)袋中产生1:10稀释液。使用匀质器在中速下将混合物均质化2分钟。均质化后,在0.9% (w/v) NaCl中制备十倍稀释液。将细菌在30°C下于胰酪大豆琼脂(Tryptone Soya Agar) (TSA) (CM0129, Oxoid公司,贝辛斯托克,汉普郡,英国)上需氧地孵育5-7天并对其进行计数。为了抑制酵母和霉菌的生长,添加0.2%山梨酸(359769,西格玛公司(Sigma))和0.1%放线酮(18079;西格玛公司)。从可计数的板中选择细菌菌落并且通过在TSA上再划线两次进行纯化。对于长期存储,将纯化的分离株于-80°C下存储在含有20% (w/v) 甘油(49779;西格玛公司)的TSB中。

[0653] 生物膜小块布样的制备

[0654] 在本研究中,使用短波单胞菌属物种中的一种菌株。使短波单胞菌属物种在30°C下于胰酪大豆琼脂(TSA) (pH 7.3) (CM0131; Oxoid有限责任公司,贝辛斯托克,英国)上预生长2-5天。将来自一个单菌落的满环物转移至10mL的TSB(胰酪大豆肉汤,胰蛋白胨)中并且伴随振荡(240rpm)于30°C下孵育1天。繁殖后,通过离心(西格玛实验室离心机(Sigma Laboratory Centrifuge) 6K15) (3000g,在21°C下,7min)沉淀短波单胞菌属物种并且将其重悬于10mL用水稀释两次的TSB中。使用分光计(POLARstar Omega (BMG莱伯泰科(BMG Labtech),奥滕贝格(Ortenberg),德国))测量600nm处的光密度(OD)。将用水稀释两次的新鲜TSB接种至0.03的OD_{600nm},并将20mL添加至培养皿(直径8.5cm)中,在该培养皿中放

置测量为5 cm x 5cm的棉(WFK 10A)、聚酯棉(WFK 20A,65%的聚酯,35%的棉)或聚酯(WFK 30A)的小块布样。伴随振荡(100rpm)在15°C下孵育24h后,将小块布样用0.9% (w/v) NaCl 冲洗两次。

[0655] 洗涤实验

[0656] 通过将含有12%LAS、11%AEO Biosoft N25-7(NI)、7%AEOS(SLES)、6%MPG、3%乙醇、3%TEA(三乙醇胺)、2.75%可可皂、2.75%大豆皂、2%甘油、2%氢氧化钠、2%柠檬酸钠、1%甲酸钠、0.2%DTMPA和0.2%PCA(所有的百分数都是w/w)3.33 g/l的标准洗涤剂A溶解在具有硬度15°dH的水(Ca:Mg:NaHCO₃ 4:1:1.5)中制备标准洗涤剂A洗液(100%)。将TOM烧杯中添加标准洗涤剂A洗液(1000ml),并然后添加颜料污垢(Pigmentschmutz,09V,wfk,克雷费尔德,德国)(0.35g/L)。在用DNA酶洗涤中,添加米曲霉DNA酶(0.01ppm)。在用蛋白酶洗涤中,添加液体蛋白酶(1ppm)。将具有短波单胞菌属物种的五个冲洗的小块布样与给出10g的总重量的混合的纺织品添加至TOM烧杯中,并在30°C下在110rpm下进行洗涤30 min。洗涤后,在自来水中冲洗具有短波单胞菌属物种的小块布样,并且在滤纸上干燥过夜。使用具有非常小孔径的Macbeth Color Eye 7000反射分光光度计进行小块布样的光反射评估(REM)。在入射光中没有UV的情况下进行测量并且提取460nm处的反射。

[0657] 实例1:

纺织品	液体蛋白酶浓度 (ppm)	REM _{460nm}	ΔRem _{460nm}
棉	0	66.9	
	1	67.7	0.8
聚酯棉	0	65.4	
	1	69.0	3.5
聚酯	0	74.3	
	1	76.8	2.4

纺织品	ΔRem _{460nm} (液体蛋白酶 (1 ppm))	ΔRem _{460nm} (DNA 酶 (0.01 ppm))	ΔREM _{460nm} (液体蛋白酶(1 ppm)) + ΔREM _{460nm} (DNA 酶 (0.01 ppm))	ΔREM _{460nm} (液体蛋白酶 (1 ppm) +DNA 酶 (0.01 ppm))
棉	0.8	2.5	3.3	3.2
聚酯棉	3.5	5.8	9.3	9.1
聚酯	3.0	2.4	5.4	4.5

[0660] 所使用的蛋白酶是具有以下修饰的SEQ ID NO:8的变体:Y167A+R170S+A194P,其中这些位置对应于SEQ ID NO:7的位置。

[0001] 序列表
 [0002] <110> 诺维信公司
 [0003] <120> 衣物洗涤方法,多肽的用途和洗涤剂组合物
 [0004] <130> 13265-WO-PCT
 [0005] <140> -
 [0006] <141> 2016-10-07
 [0007] <160> 9
 [0008] <170> PatentIn版本3.5
 [0009] <210> 1
 [0010] <211> 243
 [0011] <212> PRT
 [0012] <213> 米曲霉
 [0013] <220>
 [0014] <221> 信号
 [0015] <222> (1) .. (22)
 [0016] <220>
 [0017] <221> 前肽
 [0018] <222> (23) .. (37)
 [0019] <220>
 [0020] <221> 链
 [0021] <222> (38) .. (243)
 [0022] <223> 成熟多肽
 [0023] <400> 1
 [0024] Met Gln Leu Thr Lys Ser Leu Leu Val Phe Ala Leu Tyr Met Phe Gly
 [0025] 1 5 10 15
 [0026] Thr Gln His Val Leu Ala Val Pro Val Asn Pro Glu Pro Asp Ala Thr
 [0027] 20 25 30
 [0028] Ser Val Glu Asn Val Ala Leu Lys Thr Gly Ser Gly Asp Ser Gln Ser
 [0029] 35 40 45
 [0030] Asp Pro Ile Lys Ala Asp Leu Glu Val Lys Gly Gln Ser Ala Leu Pro
 [0031] 50 55 60
 [0032] Phe Asp Val Asp Cys Trp Ala Ile Leu Cys Lys Gly Ala Pro Asn Val
 [0033] 65 70 75 80
 [0034] Leu Gln Arg Val Asn Glu Lys Thr Lys Asn Ser Asn Arg Asp Arg Ser
 [0035] 85 90 95
 [0036] Gly Ala Asn Lys Gly Pro Phe Lys Asp Pro Gln Lys Trp Gly Ile Lys
 [0037] 100 105 110
 [0038] Ala Leu Pro Pro Lys Asn Pro Ser Trp Ser Ala Gln Asp Phe Lys Ser

[0039]	115	120	125
[0040]	Pro Glu Glu Tyr Ala Phe Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Thr Asn Ala		
[0041]	130	135	140
[0042]	Ile Leu Ala Pro Val Asn Leu Ala Ser Gln Asn Ser Gln Gly Gly Val		
[0043]	145	150	155
[0044]	Leu Asn Gly Phe Tyr Ser Ala Asn Lys Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser		
[0045]	165	170	175
[0046]	Lys Pro Gln Gln Thr Lys Gly Thr Trp Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr		
[0047]	180	185	190
[0048]	Gly Ala Ala Gly Pro Tyr Cys Lys Ala Leu Gly Ser Asn Asp Lys Ser		
[0049]	195	200	205
[0050]	Val Cys Asp Lys Asn Lys Asn Ile Ala Gly Asp Trp Gly Phe Asp Pro		
[0051]	210	215	220
[0052]	Ala Lys Trp Ala Tyr Gln Tyr Asp Glu Lys Asn Asn Lys Phe Asn Tyr		
[0053]	225	230	235
[0054]	Val Gly Lys		
[0055]	<210> 2		
[0056]	<211> 206		
[0057]	<212> PRT		
[0058]	<213> 米曲霉		
[0059]	<220>		
[0060]	<221> 链		
[0061]	<222> (1) .. (206)		
[0062]	<223> 成熟多肽		
[0063]	<400> 2		
[0064]	Ala Leu Lys Thr Gly Ser Gly Asp Ser Gln Ser Asp Pro Ile Lys Ala		
[0065]	1	5	10
[0066]	Asp Leu Glu Val Lys Gly Gln Ser Ala Leu Pro Phe Asp Val Asp Cys		
[0067]	20	25	30
[0068]	Trp Ala Ile Leu Cys Lys Gly Ala Pro Asn Val Leu Gln Arg Val Asn		
[0069]	35	40	45
[0070]	Glu Lys Thr Lys Asn Ser Asn Arg Asp Arg Ser Gly Ala Asn Lys Gly		
[0071]	50	55	60
[0072]	Pro Phe Lys Asp Pro Gln Lys Trp Gly Ile Lys Ala Leu Pro Pro Lys		
[0073]	65	70	75
[0074]	Asn Pro Ser Trp Ser Ala Gln Asp Phe Lys Ser Pro Glu Glu Tyr Ala		
[0075]	85	90	95
[0076]	Phe Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Thr Asn Ala Ile Leu Ala Pro Val		
[0077]	100	105	110

[0078]	Asn Leu Ala Ser Gln Asn Ser Gln Gly Gly Val Leu Asn Gly Phe Tyr
[0079]	115 120 125
[0080]	Ser Ala Asn Lys Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser Lys Pro Gln Gln Thr
[0081]	130 135 140
[0082]	Lys Gly Thr Trp Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr Gly Ala Ala Gly Pro
[0083]	145 150 155 160
[0084]	Tyr Cys Lys Ala Leu Gly Ser Asn Asp Lys Ser Val Cys Asp Lys Asn
[0085]	165 170 175
[0086]	Lys Asn Ile Ala Gly Asp Trp Gly Phe Asp Pro Ala Lys Trp Ala Tyr
[0087]	180 185 190
[0088]	Gln Tyr Asp Glu Lys Asn Asn Lys Phe Asn Tyr Val Gly Lys
[0089]	195 200 205
[0090]	<210> 3
[0091]	<211> 204
[0092]	<212> PRT
[0093]	<213> 米曲霉
[0094]	<220>
[0095]	<221> 链
[0096]	<222> (1) .. (204)
[0097]	<223> 成熟多肽
[0098]	<400> 3
[0099]	Lys Thr Gly Ser Gly Asp Ser Gln Ser Asp Pro Ile Lys Ala Asp Leu
[0100]	1 5 10 15
[0101]	Glu Val Lys Gly Gln Ser Ala Leu Pro Phe Asp Val Asp Cys Trp Ala
[0102]	20 25 30
[0103]	Ile Leu Cys Lys Gly Ala Pro Asn Val Leu Gln Arg Val Asn Glu Lys
[0104]	35 40 45
[0105]	Thr Lys Asn Ser Asn Arg Asp Arg Ser Gly Ala Asn Lys Gly Pro Phe
[0106]	50 55 60
[0107]	Lys Asp Pro Gln Lys Trp Gly Ile Lys Ala Leu Pro Pro Lys Asn Pro
[0108]	65 70 75 80
[0109]	Ser Trp Ser Ala Gln Asp Phe Lys Ser Pro Glu Glu Tyr Ala Phe Ala
[0110]	85 90 95
[0111]	Ser Ser Leu Gln Gly Gly Thr Asn Ala Ile Leu Ala Pro Val Asn Leu
[0112]	100 105 110
[0113]	Ala Ser Gln Asn Ser Gln Gly Gly Val Leu Asn Gly Phe Tyr Ser Ala
[0114]	115 120 125
[0115]	Asn Lys Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser Lys Pro Gln Gln Thr Lys Gly
[0116]	130 135 140

[0117]	Thr Trp Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr Gly Ala Ala Gly Pro Tyr Cys
[0118]	145 150 155 160
[0119]	Lys Ala Leu Gly Ser Asn Asp Lys Ser Val Cys Asp Lys Asn Lys Asn
[0120]	165 170 175
[0121]	Ile Ala Gly Asp Trp Gly Phe Asp Pro Ala Lys Trp Ala Tyr Gln Tyr
[0122]	180 185 190
[0123]	Asp Glu Lys Asn Asn Lys Phe Asn Tyr Val Gly Lys
[0124]	195 200
[0125]	<210> 4
[0126]	<211> 205
[0127]	<212> PRT
[0128]	<213> 哈茨木霉
[0129]	<220>
[0130]	<221> 信号
[0131]	<222> (1) .. (17)
[0132]	<220>
[0133]	<221> 链
[0134]	<222> (18) .. (205)
[0135]	<223> 成熟多肽
[0136]	<400> 4
[0137]	Met Lys Leu Ser Ile Ser Val Ala Leu Thr Ser Ala Ile Ala Val Leu
[0138]	1 5 10 15
[0139]	Ala Ala Pro Ala Pro Met Pro Thr Pro Pro Gly Ile Pro Thr Glu Ser
[0140]	20 25 30
[0141]	Ser Ala Arg Thr Gln Leu Ala Gly Leu Thr Val Ala Val Ala Gly Ser
[0142]	35 40 45
[0143]	Gly Thr Gly Tyr Ser Arg Asp Leu Phe Pro Thr Trp Asp Ala Ile Ser
[0144]	50 55 60
[0145]	Gly Asn Cys Asn Ala Arg Glu Tyr Val Leu Lys Arg Asp Gly Glu Gly
[0146]	65 70 75 80
[0147]	Val Gln Val Asn Asn Ala Cys Glu Ser Gln Ser Gly Thr Trp Ile Ser
[0148]	85 90 95
[0149]	Pro Tyr Asp Asn Ala Ser Phe Thr Asn Ala Ser Ser Leu Asp Ile Asp
[0150]	100 105 110
[0151]	His Met Val Pro Leu Lys Asn Ala Trp Ile Ser Gly Ala Ser Ser Trp
[0152]	115 120 125
[0153]	Thr Thr Ala Gln Arg Glu Ala Leu Ala Asn Asp Val Ser Arg Pro Gln
[0154]	130 135 140
[0155]	Leu Trp Ala Val Ser Ala Ser Ala Asn Arg Ser Lys Gly Asp Arg Ser

[0156]	145	150	155	160
[0157]	Pro Asp Gln Trp Lys Pro Pro Leu Thr Ser Phe Tyr Cys Thr Tyr Ala			
[0158]	165	170	175	
[0159]	Lys Ser Trp Ile Asp Val Lys Ser Phe Tyr Lys Leu Thr Ile Thr Ser			
[0160]	180	185	190	
[0161]	Ala Glu Lys Thr Ala Leu Ser Ser Met Leu Asp Thr Cys			
[0162]	195	200	205	
[0163]	<210> 5			
[0164]	<211> 142			
[0165]	<212> PRT			
[0166]	<213> 地衣芽孢杆菌			
[0167]	<220>			
[0168]	<221> 信号			
[0169]	<222> (1) .. (33)			
[0170]	<220>			
[0171]	<221> 链			
[0172]	<222> (34) .. (142)			
[0173]	<223> 成熟多肽			
[0174]	<400> 5			
[0175]	Met Ile Lys Lys Trp Ala Val His Leu Leu Phe Ser Ala Leu Val Leu			
[0176]	1	5	10	15
[0177]	Leu Gly Leu Ser Gly Gly Ala Ala Tyr Ser Pro Gln His Ala Glu Gly			
[0178]	20	25	30	
[0179]	Ala Ala Arg Tyr Asp Asp Ile Leu Tyr Phe Pro Ala Ser Arg Tyr Pro			
[0180]	35	40	45	
[0181]	Glu Thr Gly Ala His Ile Ser Asp Ala Ile Lys Ala Gly His Ser Asp			
[0182]	50	55	60	
[0183]	Val Cys Thr Ile Glu Arg Ser Gly Ala Asp Lys Arg Arg Gln Glu Ser			
[0184]	65	70	75	80
[0185]	Leu Lys Gly Ile Pro Thr Lys Pro Gly Phe Asp Arg Asp Glu Trp Pro			
[0186]	85	90	95	
[0187]	Met Ala Met Cys Glu Glu Gly Gly Lys Gly Ala Ser Val Arg Tyr Val			
[0188]	100	105	110	
[0189]	Ser Ser Ser Asp Asn Arg Gly Ala Gly Ser Trp Val Gly Asn Arg Leu			
[0190]	115	120	125	
[0191]	Ser Gly Phe Ala Asp Gly Thr Arg Ile Leu Phe Ile Val Gln			
[0192]	130	135	140	
[0193]	<210> 6			
[0194]	<211> 136			

[0195] <212> PRT
 [0196] <213> 枯草芽孢杆菌
 [0197] <220>
 [0198] <221> 信号
 [0199] <222> (1) .. (26)
 [0200] <220>
 [0201] <221> 链
 [0202] <222> (27) .. (136)
 [0203] <223> 成熟多肽
 [0204] <400> 6
 [0205] Met Lys Lys Trp Met Ala Gly Leu Phe Leu Ala Ala Ala Val Leu Leu
 [0206] 1 5 10 15
 [0207] Cys Leu Met Val Pro Gln Gln Ile Gln Gly Ala Ser Ser Tyr Asp Lys
 [0208] 20 25 30
 [0209] Val Leu Tyr Phe Pro Leu Ser Arg Tyr Pro Glu Thr Gly Ser His Ile
 [0210] 35 40 45
 [0211] Arg Asp Ala Ile Ala Glu Gly His Pro Asp Ile Cys Thr Ile Asp Arg
 [0212] 50 55 60
 [0213] Asp Gly Ala Asp Lys Arg Arg Glu Glu Ser Leu Lys Gly Ile Pro Thr
 [0214] 65 70 75 80
 [0215] Lys Pro Gly Tyr Asp Arg Asp Glu Trp Pro Met Ala Val Cys Glu Glu
 [0216] 85 90 95
 [0217] Gly Gly Ala Gly Ala Asp Val Arg Tyr Val Thr Pro Ser Asp Asn Arg
 [0218] 100 105 110
 [0219] Gly Ala Gly Ser Trp Val Gly Asn Gln Met Ser Ser Tyr Pro Asp Gly
 [0220] 115 120 125
 [0221] Thr Arg Val Leu Phe Ile Val Gln
 [0222] 130 135
 [0223] <210> 7
 [0224] <211> 275
 [0225] <212> PRT
 [0226] <213> 解淀粉芽孢杆菌
 [0227] <400> 7
 [0228] Ala Gln Ser Val Pro Tyr Gly Val Ser Gln Ile Lys Ala Pro Ala Leu
 [0229] 1 5 10 15
 [0230] His Ser Gln Gly Tyr Thr Gly Ser Asn Val Lys Val Ala Val Ile Asp
 [0231] 20 25 30
 [0232] Ser Gly Ile Asp Ser Ser His Pro Asp Leu Lys Val Ala Gly Gly Ala
 [0233] 35 40 45

[0234]	Ser Met Val Pro Ser Glu Thr Asn Pro Phe Gln Asp Asn Asn Ser His
[0235]	50 55 60
[0236]	Gly Thr His Val Ala Gly Thr Val Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly
[0237]	65 70 75 80
[0238]	Val Leu Gly Val Ala Pro Ser Ala Ser Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu
[0239]	85 90 95
[0240]	Gly Ala Asp Gly Ser Gly Gln Tyr Ser Trp Ile Ile Asn Gly Ile Glu
[0241]	100 105 110
[0242]	Trp Ala Ile Ala Asn Asn Met Asp Val Ile Asn Met Ser Leu Gly Gly
[0243]	115 120 125
[0244]	Pro Ser Gly Ser Ala Ala Leu Lys Ala Ala Val Asp Lys Ala Val Ala
[0245]	130 135 140
[0246]	Ser Gly Val Val Val Val Ala Ala Ala Gly Asn Glu Gly Thr Ser Gly
[0247]	145 150 155 160
[0248]	Ser Ser Ser Thr Val Gly Tyr Pro Gly Lys Tyr Pro Ser Val Ile Ala
[0249]	165 170 175
[0250]	Val Gly Ala Val Asp Ser Ser Asn Gln Arg Ala Ser Phe Ser Ser Val
[0251]	180 185 190
[0252]	Gly Pro Glu Leu Asp Val Met Ala Pro Gly Val Ser Ile Gln Ser Thr
[0253]	195 200 205
[0254]	Leu Pro Gly Asn Lys Tyr Gly Ala Tyr Asn Gly Thr Ser Met Ala Ser
[0255]	210 215 220
[0256]	Pro His Val Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ile Leu Ser Lys His Pro Asn
[0257]	225 230 235 240
[0258]	Trp Thr Asn Thr Gln Val Arg Ser Ser Leu Glu Asn Thr Thr Thr Lys
[0259]	245 250 255
[0260]	Leu Gly Asp Ser Phe Tyr Tyr Gly Lys Gly Leu Ile Asn Val Gln Ala
[0261]	260 265 270
[0262]	Ala Ala Gln
[0263]	275
[0264]	<210> 8
[0265]	<211> 269
[0266]	<212> PRT
[0267]	<213> 迟缓芽孢杆菌
[0268]	<400> 8
[0269]	Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
[0270]	1 5 10 15
[0271]	His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
[0272]	20 25 30

[0273]	Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
[0274]	35 40 45
[0275]	Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
[0276]	50 55 60
[0277]	His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
[0278]	65 70 75 80
[0279]	Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
[0280]	85 90 95
[0281]	Ser Gly Ser Gly Ser Val Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
[0282]	100 105 110
[0283]	Gly Asn Asn Gly Met His Val Ala Asn Leu Ser Leu Gly Ser Pro Ser
[0284]	115 120 125
[0285]	Pro Ser Ala Thr Leu Glu Gln Ala Val Asn Ser Ala Thr Ser Arg Gly
[0286]	130 135 140
[0287]	Val Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Gly Ser Ile Ser
[0288]	145 150 155 160
[0289]	Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
[0290]	165 170 175
[0291]	Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
[0292]	180 185 190
[0293]	Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
[0294]	195 200 205
[0295]	Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
[0296]	210 215 220
[0297]	Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
[0298]	225 230 235 240
[0299]	Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
[0300]	245 250 255
[0301]	Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
[0302]	260 265
[0303]	<210> 9
[0304]	<211> 269
[0305]	<212> PRT
[0306]	<213> 迟缓芽孢杆菌
[0307]	<400> 9
[0308]	Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
[0309]	1 5 10 15
[0310]	His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
[0311]	20 25 30

[0312]	Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
[0313]	35 40 45
[0314]	Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
[0315]	50 55 60
[0316]	His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
[0317]	65 70 75 80
[0318]	Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
[0319]	85 90 95
[0320]	Asp Gly Arg Gly Ala Ile Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
[0321]	100 105 110
[0322]	Gly Asn Asn Gly Met His Val Ala Asn Leu Ser Leu Gly Ser Pro Ser
[0323]	115 120 125
[0324]	Pro Ser Ala Thr Leu Glu Gln Ala Val Asn Ser Ala Thr Ser Arg Gly
[0325]	130 135 140
[0326]	Val Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Ser Ser Ile Ser
[0327]	145 150 155 160
[0328]	Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
[0329]	165 170 175
[0330]	Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
[0331]	180 185 190
[0332]	Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
[0333]	195 200 205
[0334]	Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
[0335]	210 215 220
[0336]	Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
[0337]	225 230 235 240
[0338]	Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
[0339]	245 250 255
[0340]	Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
[0341]	260 265