



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 117083370 A

(43) 申请公布日 2023.11.17

(21) 申请号 202280019946.5

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

(22) 申请日 2022.03.15

专利代理师 张文辉

(66) 本国优先权数据

PCT/CN2021/083222 2021.03.26 CN

PCT/CN2021/087514 2021.04.15 CN

(51) Int.Cl.

G11D 3/37 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.09.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2022/080799 2022.03.15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/199418 EN 2022.09.29

(71) 申请人 诺维信公司

地址 丹麦鲍斯韦

(72) 发明人 蔡悦 李沛昱 L·M·米克尔森

H·伦德

权利要求书3页 说明书46页

序列表15页

(54) 发明名称

聚合物含量降低的洗涤剂组合物

(57) 摘要

本发明涉及聚合物含量降低的洗涤剂组合物。

1. 一种洗涤剂组合物,其包含按重量计0.5%至2%的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物、0.0001%至5% (w/w)的具有纤维素酶活性的多肽的活性酶蛋白、和任选地至少一种另外的酶、以及洗涤剂辅助成分。

2. 根据权利要求1所述的洗涤剂组合物,其包含按重量计0.5%至1.5%,例如0.7%至1.3%、例如0.8%至1.2%、例如0.9%至1.1%,优选地按重量计约1%的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,0.0001%至5% (w/w)的具有纤维素酶活性的多肽的活性酶蛋白,和任选的至少一种另外的酶,以及洗涤剂辅助成分。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的洗涤剂组合物,其包含0.001%至1% (w/w)的具有纤维素酶活性的多肽的活性酶蛋白。

4. 根据权利要求1至权利要求3所述的洗涤剂组合物,其中该具有纤维素酶活性的多肽获得自真菌来源,优选地特异腐质霉或土生梭孢壳霉,或细菌来源,优选地碱性秋叶氏芽孢杆菌或多黏类芽孢杆菌。

5. 根据权利要求1至权利要求4中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该具有纤维素酶活性的多肽选自属于以下的纤维素酶的组:糖苷水解酶家族5 (GH5)、糖苷水解酶家族7 (GH7)、糖苷水解酶家族12 (GH12)、糖苷水解酶家族44 (GH44)、糖苷水解酶家族45 (GH45)、EC 3.2.1.4、EC 3.2.1.21、EC 3.2.1.91或EC 3.2.1.172。

6. 根据权利要求1所述的洗涤剂组合物,其进一步包含脱氧核糖核酸酶,该脱氧核糖核酸酶获得自真菌来源,优选地曲霉属,例如米曲霉,或获得自细菌来源,优选地芽孢杆菌属,例如食物芽孢杆菌。

7. 根据权利要求1至权利要求5中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该具有纤维素酶活性的多肽具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13,或具有与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的纤维素酶。

8. 根据权利要求1至权利要求6所述的洗涤剂组合物,其中该任选地至少一种另外的酶具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14,或与其具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的多肽。

9. 具有纤维素酶活性的多肽用于改善洗涤剂组合物的可持续性特征的用途,

i. 其中该具有纤维素酶活性的多肽,任选地与至少一种另外的酶组合,改善了所述洗涤剂组合物的可持续性特征,

ii. 其中当该洗涤剂组合物的一种或多种乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物被生物可降解成分部分或完全替代时,该洗涤剂组合物的可持续性特征得到改善。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽选自属于以下的纤维素酶组成的组:糖苷水解酶家族5 (GH5)、糖苷水解酶家族7 (GH7)、糖苷水解酶家族12 (GH12)、糖苷水解酶家族44 (GH44)、糖苷水解酶家族45 (GH45)、EC 3.2.1.4、EC 3.2.1.21、EC 3.2.1.91和EC 3.2.1.172。

11. 根据权利要求9或权利要求10所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽获得自真菌来源,优选地特异腐质霉或土生梭孢壳霉,或细菌来源,优选地秋叶氏芽孢杆菌或多黏类芽孢杆菌。

12. 根据权利要求9或权利要求10所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13,或具有与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的纤维素酶。

13. 根据权利要求9至权利要求12中任一项所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽与至少一种另外的酶组合,其中该至少一种另外的酶选自由以下组成的组:蛋白酶、淀粉酶、脱氧核糖核酸酶、脂肪酶、木葡聚糖酶、角质酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶和甘露聚糖酶。

14. 根据权利要求9或权利要求13所述的用途,其中该另外的酶是脱氧核糖核酸酶。

15. 根据权利要求14所述的用途,其中该脱氧核糖核酸酶获得自真菌来源,优选地曲霉属,例如米曲霉,或获得自细菌来源,优选地芽孢杆菌属,例如食物芽孢杆菌。

16. 根据权利要求14所述的用途,其中该脱氧核糖核酸酶具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14,或具有与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的脱氧核糖核酸酶。

17. 根据权利要求9至权利要求12中任一项所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽以对应于从0.0001%至5% (w/w) 的活性酶蛋白的量存在于该洗涤剂组合物中。

18. 根据权利要求17所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽以对应于从0.001%至1% (w/w) 的活性酶蛋白的量存在于该洗涤剂组合物中。

19. 根据权利要求9或权利要求13至权利要求16中任一项所述的用途,其中该至少一种另外的酶以对应于从0.001%至5%、更优选地从0.005%至5%、更优选地从0.005%到4%、更优选地从0.005%至3%、更优选地从0.005%到2%、甚至更优选地从0.01%至2%、并且最优选地从0.01%至1% (w/w) 的活性酶蛋白的量存在于该洗涤剂组合物中。

20. 根据权利要求9至19中任一项所述的用途,其中该洗涤剂用于洗涤纺织品、优选地基于纤维素的纺织品或基于纤维素和不基于纤维素的纺织品的共混物。

21. 一种用于改善洗涤剂组合物的可持续性特征的方法,该方法包括用具有纤维素酶活性的多肽,任选地与至少一种另外的酶组合,部分或完全替代该洗涤剂组合物的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,其中当该洗涤剂组合物的一种或多种乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物被生物可降解成分部分或完全替代时,该洗涤剂组合物的可持续性特征得到改善。

22. 根据权利要求21所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽选自由属于以下的纤维素酶组成的组:糖苷水解酶家族5 (GH5)、糖苷水解酶家族7 (GH7)、糖苷水解酶家族12 (GH12)、糖苷水解酶家族44 (GH44)、糖苷水解酶家族45 (GH45)、EC 3.2.1.4、EC 3.2.1.21、

EC 3.2.1.91和EC 3.2.1.172。

23.根据权利要求21或权利要求22所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽获得自真菌来源,优选地特异腐质霉或土生梭孢壳霉,或细菌来源,优选地秋叶氏芽孢杆菌或多黏类芽孢杆菌。

24.根据权利要求21或权利要求22所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽具有选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13,或具有与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的纤维素酶。

聚合物含量降低的洗涤剂组合物

[0001] 序列表的引用

[0002] 本申请含有计算机可读形式的序列表,将其通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及具有改善的可持续性的洗涤剂组合物,其中通过使用具有纤维素酶活性的多肽,任选地与DNA酶组合来降低聚合物的水平。

背景技术

[0004] 洗涤剂释放污物和保持污物悬浮的能力对其效率至关重要。未被洗涤剂悬浮的颗粒污垢将再沉积在织物上。已知再沉积的污垢通常比原始污垢更难去除,部分原因是其粒径更小。洗涤剂中的表面活性剂释放污物和使其保持悬浮的能力通常不足,因此将聚合物添加至洗涤剂中。聚合物的添加有助于防止服装灰化、暗淡和黄化,从消费者角度来说,这些显然是所关心的。

[0005] 然而,聚合物通常源自石油化学资源,并且由于环境问题而面临审查,最重要的是因为它们来自不可再生来源并且难以生物降解或甚至一直存在于环境中,因此是不可持续的。期望提供具有改善的可持续性特征的替代品,同时保持与其他洗涤剂成分的相容性。此外,必须保持消费者利益和性能效果。

发明内容

[0006] 存在于洗涤剂中的石油化学衍生聚合物不可持续,因为它们来自不可再生来源并且难以生物降解或甚至一直存在于环境中。本发明的发明人已经惊讶地发现,通过添加纤维素酶部分或甚至全部替代洗涤剂中的聚合物可以实现更可持续的洗涤剂组合物(即具有改善的可持续性特征的洗涤剂组合物),同时保持该洗涤剂的洗涤性能。除了产生自可再生农业来源外,并且与聚合物相比,纤维素酶是环境中天然存在的并且易生物降解。

[0007] 用纤维素酶替代聚合物符合联合国可持续发展目标,特别是目标12“负责任消费和生产”:用纤维素酶替代聚合物使洗涤剂生产商(以及因此最终用户)从化石原料转移至可再生原料,并且减少排放到环境中的持久性化学品的量。因此,本发明披露了纤维素酶如何可以部分或完全替代聚合物用于在洗涤周期内减少或去除污垢再沉积到物品上,从而改善洗涤剂的可持续性特征。

[0008] 定义

[0009] 细菌的:术语关于多肽(如酶,例如,纤维素酶)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“细菌纤维素酶”或“获得自细菌来源的具有纤维素酶活性的多肽”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可直接从细菌物种的基因组衍生的纤维素酶,其中这些细菌物种未经受通过引入编码所述纤维素酶的重组DNA进行的遗传修饰。因此,编码具有纤维

素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。编码具有纤维素酶活性的细菌多肽的序列也可以称为野生型纤维素酶(或亲本纤维素酶)。具有纤维素酶活性的细菌多肽包括重组产生的野生型。在另一个方面,本发明提供了具有纤维素酶活性的多肽,其中所述多肽与细菌纤维素酶基本上同源。在本发明的上下文中,术语“基本上同源”表示具有纤维素酶活性的多肽与所选择的细菌纤维素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%的同一性。

[0010] **纤维素酶**:术语“纤维素酶”意指水解纤维素材料的一种或多种(例如,几种)酶。可互换使用两个术语:“具有纤维素酶活性的多肽”和“纤维素酶”。纤维素酶可以选自自由以下组成的组:属于GH5、GH7、GH12、GH44、GH45、EC 3.2.1.4、EC 3.2.1.21、EC 3.2.1.91和EC 3.2.1.172的纤维素酶。此类酶包括一种或多种内切葡聚糖酶(例如,EC 3.2.1.4)、一种或多种纤维二糖水解酶、一种或多种 β -葡糖苷酶、或其组合。

[0011] 适合的纤维素酶包括细菌或真菌来源的酶的单组分和混合物。也设想到了化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。纤维素酶可以例如是单组分内切-1,4- β -葡聚糖酶(又称为内切葡聚糖酶)、或单组分内切-1,4- β -葡聚糖酶的混合物。

[0012] 适合的纤维素酶包括来自芽孢杆菌属、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、腐质霉属(*Humicola*)、毁丝霉属(*Myceliophthora*)、镰孢属(*Fusarium*)、梭孢壳属(*Thielavia*)、木霉属(*Trichoderma*)、和枝顶孢属(*Acremonium*)的那些。示例性纤维素酶包括来自特异腐质霉(*Humicola insolens*) (US 4,435,307)或来自木霉属(例如里氏木霉(*T.reesei*)或绿色木霉(*T.viride*))的真菌纤维素酶。其他适合的纤维素酶来自梭孢壳属,例如在WO 96/29397中描述的土生梭孢壳霉(*Thielavia terrestris*)或在US 5,648,263、US 5,691,178、US 5,776,757、WO 89/09259、和WO 91/17244中披露的由嗜热毁丝霉(*Myceliophthora thermophila*)和尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)产生的真菌纤维素酶。如WO 02/099091和JP 2000210081中所述,来自芽孢杆菌属的纤维素酶也是相关的。适合的纤维素酶是具有护理益处的碱性或中性纤维素酶。纤维素酶的实例在EP 0 495 257、EP 0 531 372、WO 96/11262、WO 96/29397、WO 98/08940中描述。其他实例是如描述于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中的那些纤维素酶变体。

[0013] 其他纤维素酶是具有如下序列的内切- 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%同一性;或具有如下序列的家族44木葡聚糖酶,该序列与WO 2001/062903的SEQ ID NO:2的位置40-559具有至少60%同一性。

[0014] 可商购的纤维素酶包括**Carezyme®**、**Carezyme® Premium**、**Celluzyme®**、**Celluclean®**、**Celluclast®**、**Endolase®**、**Renozyme®**; **Whitezyme® Celluclean® Classic**、**Cellusoft®**(诺维信公司(*Novozymes A/S*))、**Puradax®**、**Puradax HA**、和**Puradax EG**; **Revitalenz 1000**; **Revitalenz 200**; **Revitalenz 2000**(杜邦工业生物科学公司(*Dupont Industrial Biosciences*))、**KAC-500(B)™**(花王株式会社(*Kao Corporation*))、**Biotouch DCL**; **Biotouch FLX1**(AB酶公司(*AB enzymes*))。

[0015] 用于测量纤维素分解酶活性的两种基本方法包括:(1)测量总纤维素分解酶活性,

以及(2)测量个体纤维素分解酶活性(内切葡聚糖酶、纤维二糖水解酶和 β -葡萄糖苷酶),如在Zhang等人,2006,Biotechnology Advances[生物技术进展]24:452-481中所述的。可使用不溶性底物,包括沃特曼(Whatman) No.1滤纸、微晶纤维素、细菌纤维素、藻类纤维素、棉花、预处理的木质纤维素等,测量总纤维素分解酶活性。最常见的总纤维素分解活性测定是将沃特曼No.1滤纸用作底物的滤纸测定。该测定是由国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)建立的(Ghose,1987,Pure Appl.Chem.[纯粹与应用化学]59:257-68)。

[0016] 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。

[0017] 洗涤剂辅助剂成分:这些另外的辅助剂组分的精确性质及其掺入水平将取决于组合物的物理形式和将在其中使用组合物的操作的性质。适合的辅料包括但不限于以下描述的组分,如表面活性剂、助洗剂、絮凝剂、螯合剂、染料转移抑制剂、酶、酶稳定剂、酶抑制剂、催化材料、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预形成的过酸、s、s、增亮剂、抑泡剂、染料、香料、结构弹力剂、织物软化剂、载体、水溶助剂、助洗剂和共助洗剂、织物调色剂、防沫剂、分散剂、加工助剂、溶剂、和/或颜料。

[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物品(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特定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、条状、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;织物软化剂;洗衣增效剂;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(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/或洗涤剂辅助剂成分,如表面活性剂、助洗剂、螯合剂或螯合剂、漂白系统或漂白组分、聚合物(如本文所列)、织物柔顺剂、增泡剂、抑泡剂、染料、香料、酶抑制剂、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、防腐蚀剂、酶抑制剂或稳定剂、酶活化剂、上蓝剂和荧光染料、抗氧化剂以及增溶剂。

[0019] 酶洗涤益处:术语“酶洗涤益处”在本文中定义为将酶添加至洗涤剂中与不具有该酶的同洗涤剂相比的有利效果。可以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可见污垢非常少、防止或减少在洗涤过程中所释放的污垢再沉积(也被称作抗再沉积的效果)、完全或部分地恢复纺织品的白度(也被称作变白的效果),该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。还包括维持白度,例如,防止灰化或暗沉。不直接与催化污渍去除或防止污垢再沉积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防止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(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球或绒毛(也被称作抗起球的效果),改善织物柔软性,使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。酶漂白是另一种酶洗涤益处,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。

[0020] 片段:术语“片段”意指具有从成熟多肽或结构域的氨基和/或羧基末端缺失的一个或多个(例如,几个)氨基酸的多肽;其中该片段具有纤维素酶活性。

[0021] 真菌的:在本发明的上下文中,术语关于多肽(如酶,例如,纤维素酶)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“真菌纤维素酶”或“获得自真菌来源的具有纤维素酶活性的多肽”是指由真菌物种基因组编码并且因此直接从真菌物种基因组衍生的纤维素酶,其中该真菌物种未经受通过引入编码所述纤维素酶的重组DNA进行的遗传修饰。因此,编码具有纤维素酶活性的真菌多肽的核苷酸序列是天然在真菌物种遗传背景中的序列。由这种序列编码的具有纤维素酶活性的真菌多肽还可以是指野生型纤维素酶(或亲本纤维素酶)。在另一个方面,本发明提供了具有纤维素酶活性的多肽,其中所述多肽与真菌纤维素酶基本上同源。在本发明的上下文中,术语“基本上同源”表示具有纤维素酶活性的多肽与所选择的真菌纤维素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%的同一性。与真菌纤维素酶基本上同源的多肽可以被包括于本发明的洗涤剂中,和/或在本发明的方法中使用。

[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进行转化、转染、转导等的任何细胞类型。术语“宿主细胞”涵盖由于复制期间出现的突变而与亲本细胞不相同的任何亲本细胞子代。

[0023] 改善的洗涤性能:术语“改善的洗涤性能”在本文定义为相对于没有酶的同洗涤剂组合物的洗涤性能,酶展示出在洗涤剂组合物中增加的洗涤性能,例如,通过增加去污或较少的再沉积。术语“改善的洗涤性能”包括在衣物中的洗涤性能。

[0024] 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性质相关的一种或多种或所有天然存在的成分中去除;(3)相对于自然界中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;例如宿主细胞可以经遗传修饰以表达本发明的多肽。来自该宿主细胞的发酵液将包含分离的多肽。

[0025] 衣物洗涤:术语“衣物洗涤”涉及家用衣物洗涤和工业衣物洗涤两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。衣物洗涤过程可以例如使用例如家庭或工业洗衣机进行,或可以手动进行。

[0026] 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。

[0027] 成熟多肽编码序列:术语“成熟多肽编码序列”意指编码具有纤维素酶活性的成熟多肽的多核苷酸。

[0028] 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,或以原本不存在于自然界中的方式被修饰成含有核酸的区段,或者是合成的,该核酸分子包含一个或多个控制序列。

[0029] 可操作地连接:术语“可操作地连接”意指如下构型,在该构型中,控制序列被放置在相对于多核苷酸的编码序列适当的位置处,使得该控制序列指导该编码序列的表达。

[0030] 序列同一性:两个氨基酸序列之间或两个核苷酸序列之间的关联度通过参数“序列同一性”来描述。出于本发明的目的,使用如在EMBOSS软件包(EMBOSS:欧洲分子生物学开放软件套件(The European Molecular Biology Open Software Suite),Rice等人,2000,Trends Genet.[遗传学趋势]16:276-277)(优选5.0.0版本或更新版本)的尼德尔程序中所实施的尼德曼-翁施算法(Needleman-Wunsch algorithm)(Needleman和Wunsch,1970,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:443-453)来确定两个氨基酸序列之间的序列同一性。所使用的参数是空位开放罚分10、空位延伸罚分0.5、和EBL0SUM62(BL0SUM62的EMBOSS版本)取代矩阵。使用尼德尔标记的“最长同一性”的输出(使用非简化(-nobrief)选项获得)作为同一性百分比并且如下计算:

[0031] $(\text{相同的残基} \times 100) / (\text{比对长度} - \text{比对中的空位总数})$

[0032] 出于本发明的目的,使用如在EMBOSS包(EMBOSS:欧洲分子生物学开放软件套件(EMBOSS:The European Molecular Biology Open Software Suite),Rice等人.,2000,同上)(优选5.0.0版或更新版本)的尼德尔程序中所实施的尼德曼-翁施算法(Needleman和Wunsch,1970,同上)来确定两个脱氧核糖核苷酸序列之间的序列同一性。所使用的参数是空位开放罚分10、空位延伸罚分0.5、和EDNAFULL(NCBI NUC4.4的EMBOSS版)取代矩阵。使用尼德尔标记的“最长同一性”的输出(使用非简化(-nobrief)选项获得)作为同一性百分比并且如下计算:

[0033] $(\text{相同的脱氧核糖核苷酸} \times 100) / (\text{比对长度} - \text{比对中的空位总数})$ 。

[0034] 可持续性:可持续性和可持续的意指使用对环境损害极小或无损害且生物可降解的可再生资源。

[0035] 可持续性特征:在本发明的上下文中,术语可持续性特征用于比较成分(例如洗涤剂组合物中的)的可持续性,其中一种或多种成分可以替代其他可持续性较差的成分,同时保持系统的性能(例如物品洗涤期间洗涤剂组合物的性能)。

[0036] 纺织品:术语“纺织品”意指任何纺织品材料,该任何纺织品材料包括纱线、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,由这些材料制成的织物和由织物制成的产品(例如,服装和其他制品)。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。该纺织品可以是基于纤维素的,如天然纤维素制品,包括棉、亚麻/亚麻布、黄麻、苧麻、剑麻或椰壳纤维,或者人造纤维素制品(例如,来源于木浆),包括粘胶纤维/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,如天然聚合物,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、丙烯酸酯、聚丙烯和氨纶(spandex)/弹性纤维(elastane)、或其共混物以及基于纤维素的纤维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/粘胶纤维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/粘胶纤维、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,例如有污渍的家用衣物。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。在本发明的上下文中,术语“纺织品”可与织物和布料互换使用。

[0037] 已使用或已穿着:本文所用的关于纺织品的术语“已使用或已穿着”意指已经由消费者使用或穿着或者已经与人类皮肤(例如在生产或零售期间)接触的纺织品。消费者可以是购买纺织品的人,例如,在商店购买纺织品(例如,新衣服或床上用品)的人或购买纺织品(例如,床上用品、茶巾或桌布)用于企业用途的企业,例如,酒店、饭店、专业厨房、机构、医院等。在某些情况下,此类已使用或已穿着的纺织品会带有尚未完全洗掉的常规污渍,并可以形成粘合基础,以吸引和积聚更多空气中的颗粒物。

[0038] 变体:术语“变体”意指在一个或多个(例如,几个)位置处包含改变(即,取代、插入和/或缺失)的与亲本酶具有相同活性的多肽。取代意指用不同的氨基酸替代占据某一位置的氨基酸;缺失意指去除占据某一位置的氨基酸;而插入意指在邻接并且紧随占据某一位置的氨基酸之后添加氨基酸。在本发明的上下文中,所鉴别的纤维素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,以亲本纤维素酶(例如,SEQ ID NO:2的成熟多肽)为参比,变体的脱氧核糖核酸酶活性是增加的。

[0039] 洗涤周期:术语“洗涤周期”在本文定义为如下洗涤操作,其中将纺织品浸泡在洗涤液中,将某种机械作用应用于该纺织品,以释放污渍,并且协助洗涤液流进和流出该纺织品,并且最终去除多余的洗涤液。在一个或多个洗涤周期后,总体上对该纺织品进行漂洗和干燥。

[0040] 洗涤液:本文将术语“洗涤液”定义为任选地包括本发明的酶的水和洗涤剂组分的溶液或混合物。

[0041] 洗涤性能:术语“洗涤性能”被用作在洗涤期间洗涤剂组合物、酶或聚合物去除存在于有待清洁的物体上的污渍或保持纺织品的颜色和白度的能力。洗涤性能的改进可以通过计算如实验部分中所述的所称的 Δ REM(反射)来量化。

[0042] 重量百分比:缩写为w/w%、wt%或w%。这些缩写可互换使用。

[0043] 白度:术语“白度”在本文定义为在不同领域并且针对不同顾客具有不同含义的广义术语。白度可以用在白色纺织品上或可互换地用作有色纺织品的亮度。白度或亮度的损失可以例如归因于灰化、黄化、或光学增亮剂/调色剂的去除。灰化和黄化可归因于污垢再沉积、污渍再沉积、污物/泥浆再沉积、污染粒子、身体污垢、来自例如铁和铜离子或染料转移的着色。白度的损失可以包括来自以下列表的一个或几个问题:着色剂或染料作用;不完全污渍去除(例如身体污垢、皮脂等);再沉积(物体的灰化、黄化或其他变色)(去除的污垢与纺织品的其他部分(弄脏的或未弄脏的)再关联);在应用过程中纺织品的化学变化;以及颜色的澄清或淡色化。

[0044] 序列综述

[0045] SEQ ID NO:1是获得自米曲霉(*Aspergillus oryzae*)的DNA酶。

[0046] SEQ ID NO:2是获得自地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)的DNA酶。

[0047] SEQ ID NO:3是获得自枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的DNA酶。

[0048] SEQ ID NO:4是获得自粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)的DNA酶。

[0049] SEQ ID NO:5是获得自病研所芽孢杆菌(*Bacillus idriensis*)的DNA酶。

- [0050] SEQ ID NO:6是分离自食物芽孢杆菌(*Bacillus cibi*)的DNA酶。
- [0051] SEQ ID NO:7是获得自堀越氏芽孢杆菌(*Bacillus horikoshii*)的DNA酶。
- [0052] SEQ ID NO:8是获得自芽孢杆菌属物种(*Bacillus sp.*)的DNA酶。
- [0053] SEQ ID NO:9是获得自芽孢杆菌属物种的DNA酶。
- [0054] SEQ ID NO:10是获得自特异腐质霉(*Humicola insolens*)的纤维素酶。
- [0055] SEQ ID NO:11是获得自秋叶氏芽孢杆菌(*Bacillus akibai*)的纤维素酶。
- [0056] SEQ ID NO:12是获得自多黏类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)的纤维素酶。
- [0057] SEQ ID NO:13是获得自热白丝菌(*Melanocarpus albomyces*)的纤维素酶。
- [0058] SEQ ID NO:14是获得自米曲霉的DNA酶

具体实施方式

[0059] 本发明的发明人已经惊讶地发现,通过添加纤维素酶部分或甚至全部替代洗涤剂中的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物可以实现更可持续的洗涤剂组合物(即具有改善的可持续性特征的洗涤剂组合物),同时保持该洗涤剂的洗涤性能。除了产生自可再生农业来源外,并且与聚合物相比,纤维素酶是环境中天然存在的并且易生物降解。特别地,纤维素酶可以替代液体和粉末洗涤剂系统中发现的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,同时即使在典型的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物不存在的情况下,仍可防止洗涤期间粒子在服装上沉积。

[0060] 如实例部分所示,虽然乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物在洗涤中显示出对纺织品的益处,但纤维素酶可以显示出竞争优势,从而改善可持续性特征。

[0061] 因此,在实施例中,本发明涉及具有改善的可持续性特征的洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物包含具有纤维素酶活性的多肽、乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物和至少一种洗涤剂辅助剂成分,其中乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物与经配制的纤维素酶的比率(w/w)在0.5至20;如0.5至10;如0.5至5;如0.5至2.5;如0.5至1。

[0062] 在另一个实施例中,本发明涉及具有改善的可持续性特征的洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物包含具有纤维素酶活性的多肽、0-1.5% (w/w)范围内的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物和至少一种洗涤剂辅助剂成分,其中经配制的纤维素酶以0.05%-0.5% (w/w); 0.1%-0.5% (w/w); 0.15%-0.5% (w/w); 或0.3%-0.5% (w/w)的量添加。

[0063] 在另一个实施例中,本发明涉及具有改善的可持续性特征的洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物包含具有纤维素酶活性的多肽、乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物和至少一种洗涤剂辅助剂成分,其中乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物与具有纤维素酶活性的多肽(活性酶蛋白)之间的比率(w/w)在0-20,如2-20、5-20、5-15、5-10的范围内,如5、6、7、8、9或10。

[0064] 在另一个实施例中,本发明涉及具有纤维素酶活性的多肽用于在降低乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物的水平的同时通过维持或改善洗涤剂的洗涤性能来改善洗涤剂组合物的可持续性特征的用途。

[0065] 在另一个实施例中,本发明涉及具有纤维素酶活性的多肽用于在降低乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物的水平的同时通过在进行的洗涤循环期间从织物中去除污垢和/或减少污垢向织物的再沉积来改善洗涤剂组合物的可持续性特征的用途。当该污垢没有粘附到该物品时,该纺织品显得更干净。

[0066] 在一个实施例中,本发明涉及具有改善的持久性特征的洗涤剂组合物,其包含具有纤维素酶活性的多肽和至少一种洗涤剂辅助剂成分,其中该组合物包含按重量计2%或更少(例如,1.5%-0.5%的范围内)的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物。优选地,该组合物包含按重量计约1%的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,例如按重量计1.2%-0.8%的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,优选按重量计1.1%-0.9%的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物。

[0067] 本发明进一步涉及用于洗涤物品的方法,该方法包括以下步骤:

[0068] a) 将物品暴露于包含具有纤维素酶活性的多肽的洗涤液或包含多肽和降低水平的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物的洗涤剂组合物;

[0069] b) 完成至少一个洗涤周期;

[0070] c) 任选地添加额外的污垢;以及

[0071] d) 任选地冲洗该物品,

[0072] 其中该物品是纺织品。

[0073] 在实施例中,与用不含纤维素酶但包括更高量的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物的洗涤剂组合物进行的洗涤方法相比,用具有纤维素酶活性的多肽的洗涤方法提供了相同或更好的物品白度。

[0074] 在25°C下,液体溶液的pH在1至11的范围内,如在5.5至11的范围内、如在7至9的范围内、在7至8的范围内或在7至8.5的范围内。脱矿质水中粉末洗涤剂的pH测量为1g/L,并且优选地在1-12;如5.5-11.5;如7.5-11.5;如8-11的范围内。

[0075] 洗涤液可以具有在5°C至95°C范围内、或在10°C至80°C范围内、在10°C至70°C范围内、在10°C至60°C范围内、在10°C至50°C范围内、在15°C至40°C范围内或在20°C至40°C范围内的温度。在一个实施例中,洗涤液的温度是30°C。

[0076] 在本发明的一个实施例中,用于洗涤物品的方法进一步包括在完成洗涤周期后排掉洗涤液或部分洗涤液。然后可以将洗涤液在后续洗涤周期中或在后续漂洗循环中重复使用。在第一个和任选地第二个或第三个洗涤周期期间,可以将该物品暴露于洗涤液。在一个实施例中,在暴露于洗涤液后,漂洗该物品。可以将该物品用水或用包括柔顺剂的水进行漂洗。

[0077] 适合用于如本申请所述用途的纤维素酶优选地是微生物纤维素酶,如芽孢杆菌属或真菌纤维素酶。

[0078] 在实施例中,具有纤维素酶活性的多肽获得自腐质霉属、特别是特异腐质霉。在实施例中,纤维素酶包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列,或包含与SEQ ID NO:10的多肽具有至少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%序列同一性的氨基酸序列。在一方面,这些多肽与包含SEQ ID NO:10的多肽相差多达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。

[0079] 在实施例中,具有纤维素酶活性的多肽获得自芽孢杆菌属、特别是秋叶氏芽孢杆菌。在实施例中,纤维素酶包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列,或包含与SEQ ID NO:11的多肽具有至少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%序列同一性的氨基酸序列。在一方面,这些多肽与包含SEQ ID NO:11的多肽相差多达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。

[0080] 在实施例中,具有纤维素酶活性的多肽获得自类芽孢杆菌属(Paenibacillus)、特别是多黏类芽孢杆菌。在实施例中,纤维素酶包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列,或包含与SEQ ID NO:12的多肽具有至少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%序列同一性的氨基酸序列。在一方面,这些多肽与包含SEQ ID NO:12的多肽相差多达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。

[0081] 在实施例中,具有纤维素酶活性的多肽获得自黑果菌属(Melanocarpus)、特别是热白丝菌。在实施例中,纤维素酶包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列,或包含与SEQ ID NO:13的多肽具有至少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%序列同一性的氨基酸序列。在一方面,这些多肽与包含SEQ ID NO:13的多肽相差多达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。

[0082] 根据本发明的具有纤维素酶活性的多肽可以以对应于按洗涤剂组合物的重量百分比计至少0.00002%活性酶蛋白,优选地按洗涤剂组合物的重量百分比计至少0.000005%、0.000001%、0.00005%、0.00001%、0.0005%、0.0001%、0.005%、0.001%、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%的活性纤维素酶蛋白的量存在于洗涤剂组合物中。

[0083] 根据本发明的具有纤维素酶活性的多肽可以作为经配制的酶以按洗涤剂组合物的重量百分比计0.05%至10%的量添加。具有纤维素酶活性的多肽以及DNA酶可以作为经配制的酶以按洗涤剂组合物的重量百分比计0.05%至5%,如0.05%至3%,如0.05%、0.075%、0.1%、0.15%、0.2%、0.25%、0.3%、0.35%、0.4%、0.45%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%或9.5%或甚至10%的量添加。

[0084] 在实施例中,SEQ ID NO:10的具有纤维素酶活性的多肽或SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13的具有纤维素酶活性的多肽在一个或更多个(例如,数个)位置处包含替换、缺失和/或插入。在实施例中,引入多肽SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、或SEQ ID NO:13的具有纤维素酶活性的多肽中的氨基酸替换、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个。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;典型地为1-30个氨基酸的小缺失;小的氨基末端或羧基末端延伸,如氨基末端的甲硫氨酸残基;多达20-25个残基的小接头肽;或小的延伸,其通过改变净电荷或另一功能(如聚组氨酸段、抗原表位或结合结构域)来促进纯化。

[0085] 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],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。

[0086] 可替代地,这些氨基酸改变具有使多肽的物理化学性质改变的这样一种性质。例如,氨基酸改变可以改善多肽的热稳定性、改变底物特异性、改变最适pH等。

[0087] 可以根据本领域中已知的程序,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等人,1996,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]271:4699-4708。也可以结合假定接触位点氨基酸的突变,如通过以下技术例如核磁共振、结晶学、电子衍射或光亲和标记进行确定的对结构进行物理学分析,从而确定酶的活性位点或其他生物学相互作用。参见例如,de Vos等人,1992,Science[科学]255:306-312;Smith等人,1992,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]224:899-904;Wlodaver等人,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。

[0088] 使用已知的诱变、重组和/或改组方法,随后进行相关的筛选程序可以做出单或多氨基酸取代、缺失和/或插入并对其进行测试,所述相关的筛选程序例如由Reidhaar-Olson和Sauer,1988,Science[科学]241:53-57;Bowie和Sauer,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]86:2152-2156;WO 95/17413;或WO 95/22625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,DNA 7:127)。

[0089] 诱变/改组方法可以与高通量、自动化的筛选方法组合以检测由宿主细胞表达的克隆的、诱变的多肽的活性(Ness等人,1999,Nature Biotechnology[自然生物技术]17:893-896)。可从宿主细胞回收编码活性多肽的诱变的DNA分子,并使用本领域的标准方法快速测序。这些方法允许快速确定多肽中各个氨基酸残基的重要性。

[0090] 多肽可以是杂合多肽,其中一种多肽的区域在另一种多肽的区域的N-末端或C-末端处融合。

[0091] 多肽可以是融合多肽或可切割的融合多肽,其中另一种多肽在本发明多肽的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融合于本发明的多核苷酸来产生融合多肽。用于产生融合多肽的技术是本领域已知的,并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一个或多个相同的启动子和终止子的控制之下。还可以使用内含肽技术构建融合多肽,其中在翻译后产生融合多肽(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)。

[0092] 洗涤液中酶(纤维素酶、DNA酶和其他存在的酶)的浓度典型地在0.00004-100ppm酶蛋白范围内,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、以及最优选地0.5-10ppm酶蛋白。

[0093] 可以使用常规稳定剂稳定化本发明的洗涤剂组合物的酶(纤维素酶、DNA酶和其他存在的酶),这些常规稳定剂例如是多元醇,如丙二醇或甘油、糖或糖醇、乳酸、硼酸或硼酸衍生物,例如芳香族硼酸酯,或苯基硼酸衍生物,如4-甲酰苯基硼酸,并且可以如在例如WO 92/19709和WO 92/19708中所述的配制该组合物。

[0094] 本发明的多肽还可以结合到WO 97/07202中所披露的洗涤剂配制品中,将其通过引用而特此并入。

[0095] 液体酶配制品

[0096] 酶(纤维素酶、DNA酶和其他存在的酶)可配制成液体酶配制品,该液体酶配制品通常是可倾注的组合物,不过它也可能具有高粘度。液体酶配制品的物理外观和性质可能有很大变化--例如它们可能具有不同的粘度(凝胶状到水状),着色的、没有着色的、透明的、模糊的以及甚至具有固体粒子(如在浆液和悬浮液中)。这些最小成分是使其成为液体的酶(纤维素酶、DNA酶和其他存在的酶)和溶剂系统。

[0097] 该溶剂系统可以包含水、多元醇(如甘油、(一元、二元或三元)丙二醇、(一元、二元或三元)乙二醇、糖醇(例如山梨醇、甘露糖醇、赤藓糖醇、半乳糖醇、肌醇、木糖醇或核糖醇)、聚丙二醇、和/或聚乙二醇)、乙醇、糖和盐。通常该溶剂系统还包括防腐剂和/或其他稳定剂。

[0098] 可以通过将溶剂系统和具有所希望纯度的酶浓缩物(或酶粒子以获得浆液/悬浮液)混合来制备液体酶配制品。

[0099] 在实施例中,该液体酶组合物包含:

[0100] (a) 至少0.01%w/w活性酶蛋白,

[0101] (b) 至少0.5%w/w多元醇,

[0102] (c) 水,以及

[0103] (d) 任选地防腐剂。

[0104] 可以使用常规稳定剂使本发明的液体组合物中的酶(纤维素酶、DNA酶和其他存在的酶)稳定。稳定剂的实例包括但不限于糖,如葡萄糖、果糖、蔗糖、或海藻糖;多元醇(如甘油、丙二醇);添加盐以提高离子强度;二价阳离子(例如, Ca^{2+} 或 Mg^{2+});以及酶抑制剂、酶底物、或多种聚合物(例如,PVP)。为配制品选择最佳pH可能对酶稳定性非常重要。最佳pH取决于特定的酶,但通常在pH 4-9的范围内。在一些情况下,表面活性剂,如非离子表面活性剂(例如,醇乙氧基化物)可以改进酶配制品的物理稳定性。

[0105] 本发明的一个实施例涉及包含纤维素酶的组合物,其中该组合物进一步包含:

[0106] (i) 多元醇,优选地选自甘油、(一元、二元或三元)丙二醇、(一元、二元或三元)乙二醇、聚乙二醇、糖醇、山梨醇、甘露糖醇、赤藓糖醇、半乳糖醇、肌醇、木糖醇和核糖醇;

[0107] (ii) 任选地另外的酶,优选地选自蛋白酶、淀粉酶或脂肪酶、DNA酶;甘露聚糖酶;

[0108] (iii) 任选地表面活性剂,优选地选自阴离子和非离子表面活性剂,

[0109] (iv) 任选地盐、二价阳离子、聚合物、或酶抑制剂;

[0110] (v) 任选地具有pH 4-9范围内的pH;以及

[0111] (vi) 水。

[0112] 酶的浆液或分散剂通常通过将酶的小粒子(例如,喷雾干燥粒子)分散在酶略微可溶的液体介质(例如,液体非离子表面活性剂或液体聚乙二醇)中制备。粉末也能以一定量添加到水性系统中,因此并非全部进入溶液中(高于溶解极限)。另一种形式为晶体悬浮液,该晶体悬浮液也可以是水性液体(参见例如WO 2019/002356)。另一种制备此类分散剂的方法是通过制备油包水乳液,其中酶处于水相中,并从液滴中蒸发水分。可通过添加流变改性剂(如气相二氧化硅或黄原胶)使此类浆液/悬浮液在物理上稳定(以减少或避免沉降),通常以实现剪切稀化流变学。

[0113] 配制品中酶的纯化

[0114] 可以将上述酶配制品中使用的酶(纤维素酶、DNA酶和其他存在的酶)纯化至任何希望的纯度。这包括高水平的纯化,例如通过使用结晶方法实现,但也包括无纯化或低水平的纯化,例如通过使用粗发酵液实现,如WO 2001/025411或WO 2009/152176中所述。

[0115] 微生物

[0116] 酶配制品以及以下所述的洗涤剂配制品可包含一种或多种微生物或微生物体。通常,在酶/洗涤剂配制品中可以使用任何合适的量/浓度的任何一种或多种微生物。微生物可以作为唯一的生物活性成分使用,但它们也可以与上述一种或多种酶结合使用。

[0117] 添加一种或多种微生物的目的可以是例如在WO 2012/112718中所述的减少恶臭。其他目的可包括原位产生合意的生物化合物,或者用一种或多种微生物接种/占据位置,以竞争地预防其他非希望的微生物形式占据相同位置(竞争排斥)。

[0118] 术语“微生物”通常意指通过显微镜可见的小的生物。微生物通常以单细胞或细胞集落的形式存在。一些微生物可能是多细胞的。微生物包括原核生物(例如,细菌和古生菌)和真核生物(例如,一些真菌、藻类、原生动物)。细菌的实例可以是革兰氏阳性细菌或革兰氏阴性细菌。细菌的实例形式包括营养细胞和芽孢。真菌的实例可以是酵母、霉菌和蕈类。真菌的实例形式包括菌丝和孢子。在本文中,病毒可以被认为是微生物。

[0119] 微生物可以是重组或非重组的。在一些实例中,微生物可以产生可用于包含在洗涤剂组合物中的各种物质(例如,酶)。来自微生物的提取物或提取物的级分可用于洗涤剂中。在洗涤剂中也可以使用培养微生物的培养基或来自培养基的提取物或分离物。在微生物的一些特定实例中,由微生物,其提取物、培养基和级分产生的物质可以特别排除在洗涤剂之外。在一些实例中,微生物或由微生物产生或提取的物质可以激活、增强、保存、延长洗涤剂活性或洗涤剂所含的组分的活性等。

[0120] 通常,可以使用本领域已知的方法培养微生物。然后可以以各种方式处理或配制微生物。在一些实例中,微生物可以是干的(例如,冻干的)。在一些实例中,微生物可以是被包封的(例如,喷雾干燥)。许多其他处理或配制也是可能的。这些处理或制备有利于随时间和/或在洗涤剂组分存在下保留微生物活力。然而,在一些实例中,洗涤剂中的微生物可能是无活力的。可以在使用之前或在使用洗涤剂时将经处理/配制的微生物添加到洗涤剂中。

[0121] 在一个实施例中,微生物是芽孢杆菌属物种,例如选自由以下组成的组的至少一种芽孢杆菌属物种:枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、地衣芽孢杆菌、萎缩芽孢杆菌(*Bacillus atrophaeus*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)或其组合。在优选的实施例中,上述芽孢杆菌属物种均

处于芽孢形式,这显著提高了储存稳定性。

[0122] 洗涤剂组合物

[0123] 在一个实施例中,本发明涉及包含纤维素酶与一种或多种另外的清洁组合物组分的组合的洗涤剂组合物。在一个实施例中,洗涤剂组合物包含具有纤维素酶活性的多肽,该多肽具有与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、或SEQ ID NO:13中所示的氨基酸序列具有至少60%,如70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或甚至100%同一性的氨基酸序列。洗涤剂组合物可以包含另外的酶,如DNA酶,该DNA酶具有与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、或SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列具有至少60%,如70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或甚至100%同一性的氨基酸序列。在一个实施例中,该洗涤剂组合物处于固体形式。在另一个实施例中,该洗涤剂组合物处于液体或凝胶形式。在另一个实施例中,该洗涤剂组合物处于条状形式。在一个实施例中,该洗涤剂可以包裹于水溶性PV0H膜中。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,包括下文所阐述的示例性非限制性组分。

[0124] 液体洗涤剂组合物

[0125] 该液体洗涤剂组合物可以包含本发明的微囊,并且由此形成处于任何形式的任何洗涤剂组合物的一部分,如液体和粉末洗涤剂,以及皂和洗涤剂条。

[0126] 在一个实施例中,本发明涉及液体洗涤剂组合物,这些组合物包含微囊(如上所述)与一种或多种另外的清洁组合物组分的组合。

[0127] 可以将微囊(如上所述)按对应于从0.0001%至5% (w/w) 活性酶蛋白(AEP)的量添加至该液体洗涤剂组合物中;优选地从0.001%至5%,更优选地从0.005%至5%,更优选地从0.005%至4%,更优选地从0.005%至3%,更优选地从0.005%至2%,甚至更优选地从0.01%至2%,并且最优选地从0.01%至1% (w/w) 活性酶蛋白。

[0128] 液体洗涤剂组合物具有物理形式,它不是固体(或气体)。它可以是可倾流的液体、糊剂、可倾流的凝胶或不可倾流的凝胶。它可以是各向同性的或结构性的,优选各向同性的。它可以是用于在自动洗涤剂中洗涤或用于手洗的配制品。它还可以是个人护理产品,例如洗发水、牙膏、或洗手皂。

[0129] 液体洗涤剂组合物可以是水性的,典型地含有按重量计至少20%并且高达95%的水,例如高达70%的水、高达50%的水、高达40%的水、高达30%的水、或高达20%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包含于水性液体洗涤剂中。水性液体洗涤剂可以含有从0%-30%的有机溶剂。液体洗涤剂甚至可以是非水性的,其中水含量低于10%,优选低于5%。

[0130] 洗涤剂成分可以通过水可溶的袋中的室彼此物理性地分开。因此,可以避免组分间的不良的储存相互作用。在洗涤液中,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。

[0131] 洗涤剂组合物可以采用单位剂量产品的形式。单位剂量产品是不可重复使用的容器中的单一剂量的包装。它越来越多地用于针对衣物的洗涤剂中。洗涤剂单位剂量产品是在单次洗涤中所用的洗涤剂量值的包装(例如,在由水溶性膜制得的袋中)。

[0132] 袋可以具有适合保存组合物的任何形式、形状和材料,例如在与水接触之前,不允

许组合物从袋中释放出来。该袋由水溶性膜制成,它包含了一个内部体积。可以将所述内部体积分成袋的室。优选的膜是聚合物材料,优选地形成膜或薄片的聚合物。优选的聚合物、共聚物或其衍生物是经选择的聚丙烯酸酯、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。膜还可以是共混物组合物,该共混物组合物包含可水解降解并且水溶性聚合物共混物,如聚乳酸和聚乙烯醇(已知在商品参考号M8630下,如由美国印第安纳州盖里(Gary, Ind., US)的克里斯克拉夫特工业产品公司(Chris Craft In. Prod.)销售)加增塑剂,像甘油、乙二醇、丙二醇、山梨醇及其混合物。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。组合物中,液体组分的室可以与含固体的室不同(参见例如,US2009/0011970)。

[0133] 洗涤剂组分的选择可以包括(用于纺织品护理)有待清洁的纺织品的类型、污垢的类型和/或程度、进行清洁时的温度、以及洗涤剂产品的配制的考虑。尽管根据特定的功能性以通用标题对以下提及的组分进行了分类,但是这并不被解释为限制,因为如将被技术人员所理解,组分可以包含另外的功能性。

[0134] 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,包括下文所阐述的示例性非限制性组分。

[0135] 小袋

[0136] 袋可以被配置为单一室或多室。它可以具有适合用于容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。该袋由水溶性膜制成,它包含了一个内部体积。可以将所述内部体积分成袋的室。优选的膜是聚合物材料,优选地形成膜或薄片的聚合物。优选的聚合物、共聚物或其衍生物是经选择的聚丙烯酸酯、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)。

[0137] 表面活性剂

[0138] 清洁组合物可以包含一种或多种表面活性剂,它们可以是阴离子的和/或阳离子的和/或非离子的和/或半极性的和/或兼性离子的,或其混合物。在特定的实施例中,洗涤剂组合物包括表面活性剂体系(包含多于一种表面活性剂),例如一种或多种非离子表面活性剂和一种或多种阴离子表面活性剂的混合物。在一个实施例中,洗涤剂包含至少一种阴离子表面活性剂和至少一种非离子表面活性剂,阴离子表面活性剂与非离子表面活性剂的重量比可以为20:1至1:20。阴离子表面活性剂的非限制性实例包括硫酸盐和磺酸盐,通常以钠盐或钾盐可用,或单乙醇胺(MEA, 2-氨基乙-1-醇)或三乙醇胺(TEA, 2,2',2''-次氨基三乙-1-醇);特别是直链烷基苯磺酸盐(LAS)、LAS的异构体,如支链烷基苯磺酸盐(BABS)和苯基链烷磺酸盐;烯烴磺酸盐,特别是 α -烯烴磺酸盐(AOS);烷基硫酸盐(AS),特别是脂肪醇硫酸盐(FAS),即伯醇硫酸盐(PAS),例如十二烷基硫酸盐(SLS);醇醚硫酸盐(AES或AEOS或FES,也称为醇乙氧基硫酸盐或脂肪醇醚硫酸盐);石蜡磺酸盐(PS),包括链烷-1-磺酸盐和仲链烷磺酸盐(SAS);酯磺酸盐,包括磺化脂肪酸甘油酯和 α -磺基脂肪酸甲酯(α -SFMe或SES

或MES)；烷基琥珀酸或烯基琥珀酸，如十二碳烯基/十四碳烯基琥珀酸(DTSA)；磺基琥珀酸的二酯和单酯；氨基酸的脂肪酸衍生物。阴离子表面活性剂可以作为酸、盐或乙醇胺衍生物添加。

[0139] 阳离子表面活性剂的非限制性实例包括烷基二甲基乙醇季胺(ADMEAQ)、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、二甲基二硬脂酰氯化铵(DSDMAC)、以及烷基苄基二甲基铵、烷基季铵化合物、烷氧基化季铵(AQA)化合物、酯季铵及其组合。

[0140] 非离子表面活性剂的非限制性实例包括醇乙氧基化物(AE或AEO)(例如AEO系列如AEO-7)、醇丙氧基化物(特别是丙氧基化脂肪醇(PFA)、乙氧基化醇和丙氧基化醇)、烷氧基化脂肪酸烷基酯(如乙氧基化和/或丙氧基化脂肪酸烷基酯(尤其是乙氧基甲酯,MEE))、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(葡萄糖酰胺(GA)、或脂肪酸葡萄糖酰胺(FAGA)),以及可以商品名SPAN和TWEEN获得的产品、及其组合。

[0141] 半极性表面活性剂的非限制性实例包括氧化胺(AO),如烷基二甲基氧化胺,特别是N-(椰油酰烷基)-N,N-二甲基氧化胺和N-(牛脂烷基)-N,N-双(2-羟乙基)氧化胺及其组合。

[0142] 两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。

[0143] 可以使用另外的生物基表面活性剂,例如其中表面活性剂是基于糖的非离子表面活性剂,其可以是己基- β -D-麦芽吡喃糖苷、硫代麦芽吡喃糖苷或环状麦芽吡喃糖苷,例如EP 2516606 B1中所述。其他生物表面活性剂可以包括鼠李糖脂和槐糖脂。

[0144] 水溶助剂

[0145] 水溶助剂是如下化合物,该化合物在水溶液中溶解疏水化合物(或相反地,在非极性环境中溶解极性物质)。典型地,水溶助剂具有亲水和疏水两种特征(所谓的两亲性质,如由表面活性剂已知的)。水溶助剂的非限制性实例包括苯磺酸钠、对甲苯磺酸钠(STS)、二甲苯磺酸钠(SXS)、枯烯磺酸钠(SCS)、伞花烃磺酸钠、氧化胺、醇和聚乙二醇醚、羟基萘甲酸钠、羟基萘磺酸钠、乙基己基磺酸钠及其组合。

[0146] 助洗剂和共助洗剂

[0147] 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/或共助洗剂可以特别是与Ca和Mg形成水溶性复合物的螯合试剂。可以利用本领域已知的用于在清洁洗涤剂中使用的任何助洗剂和/或共助洗剂。

[0148] 助洗剂的非限制性实例包括沸石、二磷酸盐(焦磷酸盐)、三磷酸盐如三磷酸钠(STP或STPP)、碳酸盐如碳酸钠、可溶性硅酸盐如偏硅酸钠、层状硅酸盐(例如来自科莱恩特公司(Clariant)的SKS-6)、乙醇胺如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。

[0149] 该洗涤剂组合物还可以含有按重量计从约0%-50%,如约5%至约30%的洗涤剂共助洗剂。洗涤剂组合物可以包括单独或与助洗剂(例如沸石助洗剂)组合的共助洗剂。共助洗剂的非限制性实例包括或其共聚物,如聚(丙烯酸)(PAA)或共聚(丙烯酸/马来酸)

(PAA/PMA)。进一步的非限制性实例包括柠檬酸盐、螯合剂(如氨基酸酸盐、氨基聚羧酸盐、和膦酸盐)、以及烷基琥珀酸或烯基琥珀酸。另外的特定实例包括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)、亚氨基二琥珀酸(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-1,1-二基双(膦酸(HEDP)、乙二胺四亚甲基四(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)、亚氨基二琥珀酸(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)乙二胺-N,N',N''-三乙酸(HEDTA)、二乙醇甘氨酸(DEG)、氨基三亚甲基(膦酸)(ATMP)、及其组合和盐。另外的示例性助洗剂和/或共助洗剂描述于例如WO 09/102854、US 5977053中。

[0150] 聚合物和分散剂

[0151] 通常,洗涤剂组合物可以含有按重量计的0-10%。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。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、油脂清洁、和/或消泡性质。一些聚合物可以具有多于一种的上文提到的性质和/或多于一种的下文提到的基序。示例性聚合物包括聚(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(乙烯亚胺)、羧甲基菊粉(CMI)、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-乙烯基咪唑(PVPVI)。更多示例性聚合物包括聚环氧乙烷和聚环氧丙烷(PEO-PPO)、乙氧基硫酸双季铵盐、苯乙烯/丙烯酸共聚物和香料胶囊。其他示例性聚合物披露于例如WO 2006/130575中。还设想到了上文提到的聚合物的盐。

[0152] 然而,根据本发明,上述聚合物中的某些(即聚丙烯酸、经修饰的聚丙烯酸聚合物、经修饰的聚丙烯酸共聚物、马来酸-丙烯酸共聚物、羧甲基纤维素、纤维素胶、甲基纤维素和/或其组合)可以以低于目前可用的洗涤剂组合物中的水平包含在内,或甚至更优选地完全不包含。

[0153] 织物调色剂

[0154] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括织物调色剂,如染料或颜料,当配制在洗涤剂组合物中时,当所述织物与洗涤液接触时织物调色剂可以沉积在织物上,该洗涤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。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,这可以是尤其优选的。合适的调色剂还披露于例如WO 2007/087257和WO 2007/087243中。

[0155] 另外的酶

[0156] 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,例如另外的蛋白酶、脂肪酶、角质酶、淀粉酶、糖酶、DNA酶、果胶酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶、半乳聚糖酶、木

聚糖酶、氧化酶,例如漆酶、和/或过氧化物酶。

[0157] 通常,选择的一种或多种酶的特性应当与所选择的洗涤剂相容(即,最适pH,与其他酶成分或非酶成分的相容性等),并且该一种或多种酶应当以有效量存在。

[0158] DNA酶(脱氧核糖核酸酶)

[0159] 术语“DNA酶”意指具有DNA酶活性的多肽,该多肽催化DNA主链中的磷酸二酯键的水解切割,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。

[0160] 优选地,DNA酶是多肽,该多肽包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、或SEQ ID NO:14的多肽中的任一项具有至少60%同一性,如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、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%、或甚至100%序列同一性的氨基酸序列。

[0161] 甘露聚糖酶

[0162] 适合的甘露聚糖酶包括细菌或真菌来源的那些。包括化学或遗传修饰的突变体。甘露聚糖酶可以是家族5或26的碱性甘露聚糖酶。它可以是来自芽孢杆菌属或腐质霉属的野生型,特别是来自粘琼脂芽孢杆菌(*B. agaradhaerens*)、地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)、嗜碱芽孢杆菌(*B. halodurans*)、克劳氏芽孢杆菌(*B. clausii*)、或特异腐质霉。适合的甘露聚糖酶描述于WO 1999/064619中。可商购的甘露聚糖酶是Mannaway(诺维信公司)。

[0163] 蛋白酶

[0164] 适合的蛋白酶可以是任何来源的,但优选地是细菌或真菌来源的,任选地呈蛋白质工程化的或化学修饰的突变体的形式。蛋白酶可以是碱性蛋白酶,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家族的(如胰蛋白酶)或S8家族的(如枯草杆菌蛋白酶(subtilisin))。金属蛋白酶可以例如是嗜热菌蛋白酶,例如来自M4家族的嗜热菌蛋白酶,或另一种金属蛋白酶,如来自M5、M7或M8家族的那些。

[0165] 术语“枯草杆菌酶(subtilase)”是指根据Siezen等人,Protein Eng.[蛋白质工程]4(1991)719-737和Siezen等人,Protein Sci.[蛋白质科学]6(1997)501-523的丝氨酸蛋白酶的亚组。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亚组。枯草杆菌酶可以被划分为六个亚类:枯草杆菌蛋白酶家族、嗜热蛋白酶家族、蛋白酶K家族、羊毛硫氨酸抗生素肽酶家族、Kexin家族和Pyrolysin家族。

[0166] 尽管适于洗涤剂用途的蛋白酶可以获得自多种生物(包括如曲霉属等真菌),但洗涤剂蛋白酶通常已获得自细菌(特别是从芽孢杆菌属)。衍生枯草杆菌酶的芽孢杆菌属物种的实例包括迟缓芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)、嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alkalophilus*)、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和吉氏芽孢杆菌(*Bacillus gibsonii*)。特别的枯草杆菌蛋白酶包括迟缓枯草杆菌蛋白酶(subtilisin lentus)、枯草杆菌蛋白酶Novo、枯草杆菌蛋白酶Carlsberg、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、以及例如蛋白酶PD138(描述于WO 93/18140中)。其他有用的蛋白酶是例如在WO 01/16285和WO 02/16547中描述的那些。

[0167] 胰蛋白酶样蛋白酶的实例包括镰孢属蛋白酶(在WO 94/25583和WO 2005/040372

中描述),以及来源于纤维单胞菌(*Cellulomonas*)的糜蛋白酶(在WO 2005/052161和WO 2005/052146中描述)。

[0168] 金属蛋白酶的实例包括在WO 2007/044993中描述的中性金属蛋白酶(例如衍生自解淀粉芽孢杆菌的那些),以及例如在WO 2015/158723和WO 2016/075078中描述的金属蛋白酶。

[0169] 有用的蛋白酶的实例是在WO 89/06279、WO 92/19729、WO 96/34946、WO 98/20115、WO 98/20116、WO 99/11768、WO 01/44452、WO 03/006602、WO 2004/003186、WO 2004/041979、WO 2007/006305、WO 2011/036263、WO 2014/207227、WO 2016/087617和WO 2016/174234中描述的蛋白酶变体。

[0170] 适合的可商购的蛋白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**、**Blaze®**、**Blaze Evity®100T**、**Blaze Evity®125T**、**Blaze Evity®150T**、**Blaze Evity®200T**、**Neutrase®**、**Everlase®**、**Esperase®**、**Progress®Uno**、**Progress®In**和**Progress®Excel**(诺维信公司),以下列商品名出售的那些:**Maxatase™**、**Maxacal™**、**Maxapem®**、**Purafect®0x**、**Purafect®0xP**、**Puramax®**、**FN2™**、**FN3™**、**FN4^{ex}™**、**Excellase®**、**Excellenz™ P1000**、**Excellenz™ P1250**、**Eraser™**、**Preferenz®P100**、**Purafect Prime**、**Preferenz P110™**、**Effectenz P1000™**、**Purafect®**、**Effectenz P1050™**、**Purafect® 0x**、**Effectenz™ P2000**、**Purafast™**、**Properase®**、**Opticlean™**和**Optimase®**(丹斯尼克公司(Danisco)/杜邦公司(DuPont))、BLAP(在US 5352604的图29中显示的序列)及其变体(汉高公司(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)。

[0171] 脂肪酶和角质酶

[0172] 适合的脂肪酶和角质酶包括细菌或真菌来源的那些。包括化学修饰的突变体酶或蛋白质工程化的突变体酶。实例包括来自嗜热真菌属(*Thermomyces*)的脂肪酶,例如,如描述于EP 258068和EP 305216中的来自疏绵状嗜热丝孢菌(*T.lanuginosus*) (早先命名为疏棉状腐质霉(*Humicola lanuginosa*));来自腐质霉属的角质酶,例如特异腐质霉(WO 96/13580);来自假单胞菌属的菌株的脂肪酶(这些中的一些现在改名为伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)),例如产碱假单胞菌(*P.alcaligenes*)或假产碱假单胞菌(*P.pseudoalcaligenes*) (EP 218272)、洋葱假单胞菌(*P.cepacia*) (EP 331376)、假单胞菌属菌株SD705(WO 95/06720和WO 96/27002)、威斯康星假单胞菌(*P.wisconsinensis*) (WO 96/12012);GDSL-型链霉菌属(*Streptomyces*)脂肪酶(WO 10/065455);来自稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)的角质酶(WO 10/107560);来自门多萨假单胞菌(*Pseudomonas mendocina*)的角质酶(US 5,389,536);来自褐色嗜热裂孢菌(*Thermobifida fusca*)的脂肪酶(WO 11/084412);嗜热脂肪土芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)脂肪酶(WO 11/084417);来自枯草芽孢杆菌的脂肪酶(WO 11/084599);以及来自灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*) (WO 11/150157)和始旋链霉菌(*S.pristinaespiralis*) (WO 12/

137147)的脂肪酶。

[0173] 其他实例是脂肪酶变体,如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中所述的那些。

[0174] 优选的商业化脂肪酶产品包括Lipolase™、Lipex™;Lipolax™和Lipoclean™(诺维信公司)、Lumafast(最初来自杰能科公司(Genencor))、以及Lipomax(最初来自吉斯特-布罗卡德斯公司(Gist-Brocades))。

[0175] 仍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化有限公司(Huntsman Textile Effects Pte Ltd)的商业产品Gentle Power Bleach中所用的S54V变体)(WO 10/100028)。

[0176] 淀粉酶

[0177] 可以与本发明的酶/变体/酶共混物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具有细菌或真菌起源。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。

[0178] 适合的淀粉酶包括具有WO 95/10603中的SEQ ID NO:2的淀粉酶或其与SEQ ID NO:3具有90%序列同一性的变体。优选的变体描述于WO 94/02597、WO 94/18314、WO 97/43424中以及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和444。

[0179] 不同的适合的淀粉酶包括具有WO 02/010355中的SEQ ID NO:6的淀粉酶或其与SEQ ID NO:6具有90%序列同一性的变体。SEQ ID NO:6的优选的变体是在位置181和182处具有缺失并且在位置193处具有取代的那些。

[0180] 其他实例是淀粉酶变体,例如在WO 9526397、WO 9623874、WO 9741213、WO 0060060、WO 0029560、WO 9923211、WO 9946399、WO 0060059、WO 9942567、US 20080293607、WO 10115028、WO 2011/098531、WO 2013/001078、WO 2013/001087、WO 2013063460、WO 2014099523、WO 2014164777、WO 0114532中描述的那些。

[0181] 可商购的淀粉酶是Amplify Prime™、Duramyl™、Termamyl™、Fungamyl™、Stainzyme™、Stainzyme Plus™、Natalase™、Liquozyme X及BANTM(来自诺维信公司),以及Rapidase™、Purastar™/Effectenz™、Powerase、Preferenz S1000、Preferenz S100、Preferenz S110及Preferenz S210(来自杰能科国际公司/杜邦公司)。

[0182] 过氧化物酶/氧化酶

[0183] 适合的过氧化物酶/氧化酶包括植物、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鬼伞属(*Coprinus*),例如来自灰盖鬼伞(*C.cinereus*)的过氧化物酶,及其变体,如在WO 93/24618、WO 95/

10602、以及WO 98/15257中描述的那些。可商购的过氧化物酶包括Guardzyme™ (诺维信公司)。

[0184] 适合的过氧化物酶优选是由国际生物化学与分子生物学联合会 (IUBMB) 命名委员会 (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology) 陈述的酶分类EC 1.11.1.7, 或源自其中的表现出过氧化物酶活性的任何片段构成的过氧化物酶。

[0185] 适合的过氧化物酶还包括卤代过氧化物酶, 例如氯过氧化物酶、溴过氧化物酶以及展现出氯过氧化物酶或溴过氧化物酶活性的化合物。根据其对卤素离子的特异性将卤代过氧化物酶进行分类。氯过氧化物酶 (E.C. 1.11.1.10) 催化从氯离子形成次氯酸盐。卤代过氧化物酶可以是氯过氧化物酶。优选地, 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。在优选方法中, 将含钒酸盐的卤代过氧化物酶与氯离子来源组合。

[0186] 适合的氧化酶特别地包括由酶分类EC 1.10.3.2所构成的任何漆酶或源自其的展现出漆酶活性的任何片段、或展现出类似活性的化合物, 例如儿茶酚氧化酶 (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)。

[0187] 优选的漆酶是微生物来源的酶。酶可以来源于植物、细菌或真菌 (包括丝状真菌和酵母)。

[0188] 来自真菌的合适实例包括可来源于以下的菌株的漆酶: 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*) 及褶纹鬼伞 (*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), 柱顶孢霉属 (*Schytalidium*) (例如, 嗜热柱顶孢霉 (*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)。

[0189] 来自细菌的合适的实例包括可来源于芽孢杆菌属的菌株的漆酶。

[0190] 优选的是衍生自拟鬼伞属或毁丝霉属的漆酶; 特别是衍生自灰盖拟鬼伞的漆酶, 如披露于WO 97/08325中; 或来源于嗜热毁丝霉, 如披露于WO 95/33836中。

[0191] 其他材料

[0192] 还可以使用本领域中已知用于在洗涤剂中使用的任何洗涤剂组分。其他任选的洗涤剂组分包括防腐蚀剂、防缩剂、抗污垢再沉积剂、抗皱剂、杀细菌剂、黏合剂、腐蚀抑制剂、崩解剂/崩解试剂、染料、酶稳定剂 (包括硼酸、硼酸盐、和/或多元醇, 如丙二醇)、织物柔顺剂 (包括粘土)、填料/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、污垢悬浮剂、柔软剂、抑泡剂、酶暗抑制剂、以及芯吸剂, 单独或组合使用。可以利用本领域已知的用于在洗涤剂中使用的任何成分。此类成分的选择完全在技术人员的技术范围内。

[0193] 染料转移抑制剂

[0194] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种染料转移抑制剂。适合的聚合物染料转移抑制剂包括但不限于聚乙烯吡咯烷酮聚合物、多胺N-氧化物聚合物、N-乙烯吡咯烷酮和N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯噁唑烷酮和聚乙烯咪唑或其混合物。

[0195] 荧光增白剂

[0196] 本发明的洗涤剂组合物还可以包含另外的组分,这些组分可以给正在清洁的物品着色,例如荧光增白剂或光学增亮剂。当存在时,增亮剂的水平优选地为约0.01%至约0.5%。在本发明的组合物中可以使用合适的用于在衣物洗涤剂组合物中使用的任何荧光增白剂。

[0197] 污垢释放聚合物

[0198] 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。另一种类型的污垢释放聚合物是包含核芯结构和附接至该核芯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。核芯结构可以包含聚烷基亚胺结构或聚烷醇胺结构,如在W0 2009/087523中详细描述(将其通过引用而特此并入)。此外,随机接枝共聚物是合适的污垢释放聚合物。合适的接枝共聚物更详细地描述于W0 2007/138054、W0 2006/108856以及W0 2006/113314中(通过引用并入本文)。

[0199] 抗再沉积剂

[0200] 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。以上在污垢释放聚合物下所描述的基于纤维素的聚合物还可以作为抗再沉积剂起作用。

[0201] 然而,根据本发明,上述聚合物中的某些(即聚丙烯酸、经修饰的聚丙烯酸聚合物、经修饰的聚丙烯酸共聚物、马来酸-丙烯酸共聚物、羧甲基纤维素、纤维素胶、甲基纤维素和/或其组合)可以以低于目前可用的洗涤剂组合物中的水平包含在内,或完全排除,因此改善了洗涤剂组合物的可持续性特征。

[0202] 流变改性剂

[0203] 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。流变改性剂选自由以下组成的组: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。

[0204] 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、填料、泡沫调节剂、水溶助剂、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。

[0205] 洗衣皂条

[0206] 本发明的纤维素酶可以被添加至洗衣皂条中并用于手洗洗衣、织物、和/或纺织品。术语洗衣皂条包括洗衣条、皂条、组合条(combo bar)、合成洗涤剂条、以及洗涤剂条。条的类型的通常区别在于他们含有的表面活性剂的类型,并且术语洗衣皂条包括含有来自脂肪酸的皂和/或合成皂的那些。洗衣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(例如洗衣皂

条)被放置在容器里,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以是其他的固体形状诸如圆形或椭圆。

[0207] 该洗衣皂条可以包含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-甲酸基苯硼酸、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,这样使得一价阳离子和有机阴离子的盐可以是例如甲酸钠。

[0208] 本发明的实施例

[0209] E1一种洗涤剂组合物,其包含按重量计0.5%至2%的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物、0.0001%至5% (w/w)的具有纤维素酶活性的多肽的活性酶蛋白、和任选地至少一种另外的酶、以及洗涤剂辅助成分。

[0210] E2根据E1所述的洗涤剂组合物,其包含按重量计0.5%至1.5%,例如0.7%至1.3%、例如0.8%至1.2%、例如0.9%至1.1%,优选地按重量计约1%的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,0.0001%至5% (w/w)的具有纤维素酶活性的多肽的活性酶蛋白,和任选地至少一种另外的酶,以及洗涤剂辅助成分。

[0211] E3根据E1或E2所述的洗涤剂组合物,其包含0.001%至1% (w/w)的具有纤维素酶活性的多肽的活性酶蛋白。

[0212] E4根据E1至E3所述的洗涤剂组合物,其中该具有纤维素酶活性的多肽获得自真菌来源,优选地特异腐质霉或土生梭孢壳霉,或细菌来源,优选地碱性秋叶氏芽孢杆菌或多黏类芽孢杆菌。

[0213] E5根据E1至E4中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该具有纤维素酶活性的多肽选自属于以下的纤维素酶的组:糖苷水解酶家族5(GH5)、糖苷水解酶家族7(GH7)、糖苷水解酶家族12(GH12)、糖苷水解酶家族44(GH44)、糖苷水解酶家族45(GH45)、EC 3.2.1.4、EC 3.2.1.21、EC 3.2.1.91或EC 3.2.1.172。

[0214] E6根据E1所述的洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物进一步包含脱氧核糖核酸酶,该脱氧核糖核酸酶获得自真菌来源,优选地曲霉属,例如米曲霉,或获得自细菌来源,优选地芽孢杆菌属,例如食物芽孢杆菌。。

[0215] E7根据E1至E5中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该具有纤维素酶活性的多肽具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13,或具有与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的纤维素酶。

[0216] E8根据E1至E6所述的洗涤剂组合物,其中该任选地至少一种另外的酶具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14,或与其具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的多肽。

- [0217] E9具有纤维素酶活性的多肽用于改善洗涤剂组合物的可持续性特征的用途,
- [0218] 其中该具有纤维素酶活性的多肽,任选地与至少一种另外的酶组合,改善了所述洗涤剂组合物的可持续性特征,
- [0219] 其中当该洗涤剂组合物的一种或多种乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物被生物可降解成分部分或完全替代时,该洗涤剂组合物的可持续性特征得到改善。
- [0220] E10根据E9所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽选自自由属于以下的纤维素酶组成的组:糖苷水解酶家族5(GH5)、糖苷水解酶家族7(GH7)、糖苷水解酶家族12(GH12)、糖苷水解酶家族44(GH44)、糖苷水解酶家族45(GH45)、EC 3.2.1.4、EC 3.2.1.21、EC 3.2.1.91和EC 3.2.1.172。
- [0221] E11根据E9或E10所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽获得自真菌来源,优选地特异腐质霉或土生梭孢壳霉,或细菌来源,优选地秋叶氏芽孢杆菌或多黏类芽孢杆菌。
- [0222] E12根据E9或E10所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13,或具有与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的纤维素酶。
- [0223] E13根据E9至E12中任一项所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽与至少一种另外的酶组合,其中该至少一种另外的酶选自自由以下组成的组:蛋白酶、淀粉酶、脱氧核糖核酸酶、脂肪酶、木葡聚糖酶、角质酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶和甘露聚糖酶。
- [0224] E14根据E9或E13所述的用途,其中该另外的酶是脱氧核糖核酸酶。
- [0225] E15根据E14所述的用途,其中该脱氧核糖核酸酶获得自真菌来源,优选地曲霉属,例如米曲霉,或获得自细菌来源,优选地芽孢杆菌属,例如食物芽孢杆菌。
- [0226] E16根据E14所述的用途,其中该脱氧核糖核酸酶具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14,或具有与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的脱氧核糖核酸酶。
- [0227] E17根据E9至E12中任一项所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽以对应于从0.0001%至5% (w/w)的活性酶蛋白的量存在于该洗涤剂组合物中。
- [0228] E18根据E17所述的用途,其中该具有纤维素酶活性的多肽以对应于从0.001%至1% (w/w)的活性酶的量存在于该洗涤剂组合物中。
- [0229] E19根据E9或E13至E16中任一项所述的用途,其中该至少一种另外的酶以对应于从0.001%至5%、更优选地从0.005%至5%、更优选地从0.005%到4%、更优选地从0.005%至3%、更优选地从0.005%到2%、甚至更优选地从0.01%至2%、并且最优选地从0.01%至1% (w/w)的活性酶蛋白的量存在于该洗涤剂组合物中。

[0230] E20一种用于改善洗涤剂组合物的可持续性特征的方法,该方法包括用具有纤维素酶活性的多肽,任选地与至少一种另外的酶组合,部分或完全替代该洗涤剂组合物的乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,其中当该洗涤剂组合物的一种或多种乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物被生物可降解成分部分或完全替代时,该洗涤剂组合物的可持续性特征得到改善。

[0231] E21根据E20所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽选自自由属于以下的纤维素酶组成的组:糖苷水解酶家族5 (GH5)、糖苷水解酶家族7 (GH7)、糖苷水解酶家族12 (GH12)、糖苷水解酶家族44 (GH44)、糖苷水解酶家族45 (GH45)、EC 3.2.1.4、EC 3.2.1.21、EC 3.2.1.91和EC 3.2.1.172。

[0232] E22根据E20或E21所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽获得自真菌来源,优选地特异腐质霉或土生梭孢壳霉,或细菌来源,优选地秋叶氏芽孢杆菌或多黏类芽孢杆菌。

[0233] E23根据E20或E21所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13,或具有与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的纤维素酶。

[0234] E24根据E20至E23中任一项所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽与至少一种另外的酶组合,其中该至少一种另外的酶选自自由以下组成的组:蛋白酶、淀粉酶、脱氧核糖核酸酶、脂肪酶、木葡聚糖酶、角质酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶和甘露聚糖酶。

[0235] E25根据E20或E24所述的方法,其中该另外的酶是脱氧核糖核酸酶。

[0236] E26根据E25所述的方法,其中该脱氧核糖核酸酶获得自真菌来源,优选地曲霉属,例如米曲霉,或获得自细菌来源,优选地芽孢杆菌属,例如食物芽孢杆菌。

[0237] E27根据E25所述的方法,其中该脱氧核糖核酸酶具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14,或具有与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:14中的任一项具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或甚至至少99%序列同一性的氨基酸序列的脱氧核糖核酸酶。

[0238] E28根据E20至E23中任一项所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽以对应于从0.0001%至5% (w/w)的活性酶蛋白的量存在于该洗涤剂组合物中。

[0239] E29根据E28所述的方法,其中该具有纤维素酶活性的多肽以对应于从0.001%至1% (w/w)的活性酶的量存在于该洗涤剂组合物中。

[0240] E30根据E20或E24至E27中任一项所述的方法,其中该一种或多种任选的另外的酶以对应于从0.001%至5%、更优选地从0.005%至5%、更优选地从0.005%到4%、更优选地从0.005%至3%、更优选地从0.005%到2%、甚至更优选地从0.01%至2%、并且最优选地从0.01%至1% (w/w)的活性酶蛋白的量存在于该洗涤剂组合物中。

[0241] E31根据E9至E19中任一项所述的用途或根据E20-E30中任一项所述的方法,其中该洗涤剂用于洗涤纺织品,优选地基于纤维素的纺织品或基于纤维素和不基于纤维素的纺织品的共混物。

[0242] E32根据E31所述的用途或方法,其中该基于纤维素的纺织品选自由以下组成的组:棉、亚麻/亚麻布、黄麻、苧麻、剑麻、椰壳纤维、粘胶纤维、乙酸纤维素纤维(三胞)、莱赛尔纤维及其共混物。

[0243] E33根据E31所述的用途或方法,其中该不基于纤维素的纺织品选自丙烯酸酯、尼龙、聚酯和氨纶。

[0244] 洗涤剂组合物

[0245] 下述洗涤剂组分的范围通常可用于本发明的低聚合物洗涤剂组合物的上下文中。

[0246] 组合物1:液体洗涤剂

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|--|--------------------|
| 阴离子去污表面活性剂 (如烷基苯磺酸盐、烷基醚硫酸盐、 α -烯烃磺酸盐、甲酯磺酸盐及混合物) | 从 0 wt % 至 40 wt % |
| 非离子去污表面活性剂 (如烷基乙氧基化醇、烷基多糖苷; 甘油聚醚-6 月桂酸酯、生物表面活性剂和混合物) | 从 0 wt % 至 40 wt % |
| 其他去污表面活性剂 (如两性离子去污表面活性剂、两性表面活性剂、季铵化合物及其混合物) | 从 0 wt % 至 4 wt % |
| 羧酸盐聚合物 (如马来酸和丙烯酸的共聚物, 添加其他 PCA 聚合物, 例如 Sokalan CP 型、Acusol 型等) | 从 0 wt % 至 4 wt % |

[0247]

[0248]

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|---|--------------------|
| 聚乙二醇聚合物 (如包含聚乙酸乙烯酯侧链的聚乙二醇聚合物、PEG/醋酸乙烯酯共聚物, 例如 Sokalan HP22 型) | 从 0 wt % 至 4 wt % |
| 聚酯或对苯二甲酸盐污垢释放聚合物 (如聚丙烯/聚对苯二甲酸乙二酯; 聚对苯二甲酸乙二酯; 磺化聚乙烯/聚对苯二甲酸乙二酯阴离子聚酯, 非离子聚合物, 实例是 REPEL-O-TEX® 系聚合物 (索尔维公司 (Solvay)) (包括 REPEL-O-TEX® Crystal、REPEL-O-TEX® SRP-6 和 REPEL-O-TEX® SF-2), Marloquest® 聚合物 (如 Marloquest® SL (萨索尔公司 (Sasol))), 和/或 TexCare® 聚合物 (包括 TexCare® SRA-300、TexCare®、TexCare® SRN-170、TexCare® SRN-240、TexCare® SRN-260、和 TexCare® SRN-325, 科莱恩特公司))。 | 从 0 至 4 wt % |
| 其他聚合物 (如胺聚合物、染料 PVP-NO/聚乙烯吡咯烷酮 N-氧化物; 烯吡咯烷酮/乙烯基咪唑共聚物、己二胺衍生聚合物、乙氧基化多乙烯多胺; AZIRIDIN、HOMOPOLYMER、及其混合物, 例如 Sokalan HP 型、Sokalan K 型) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 其他助洗剂 (如柠檬酸钠和/或柠檬酸、乙醇胺 (如 MEA、DEA 和 TEA)) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 碳酸盐 (如碳酸钠和/或碳酸氢钠) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 溶剂 (如 1,2-丙二醇、甘油和乙醇) | 0 wt % 至 40 wt % |
| 螯合剂 (如膦酸盐和氨基羧酸盐 (乙二胺-N'N'-二琥珀酸 (EDDS) 和/或羟乙基二膦酸 (HEDP)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸) (DTPMP)、二亚乙基三胺-五乙酸 (DTPA)、乙二胺四乙酸 (EDTA)、甲基甘氨酸二乙酸 (MGDA); 谷氨酸-N,N-二乙酸 (GLDA))) | 从 0 wt % 至 2 wt % |

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|---|---------------------|
| 光学增亮剂 (如 4,4'-二苯乙烯联苯型、FWA 5; FWA 7; FWA 11 和其类似物) | 从 0 wt % 至 0.5 wt % |
| 一种或多种经配制的蛋白酶 | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 一种或多种经配制的淀粉酶 | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 一种或多种经配制的纤维素酶 | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 一种或多种经配制的脂肪酶 | 从 0 至 1 wt % |
| 其他经配置的酶 (如木葡聚糖酶、角质酶、果胶裂解酶、甘露聚糖酶、漂白酶) | 从 0 wt % 至 2 wt % |
| [0249] 一种或多种经配制的 DNA 酶 | 0.000001%-10% |
| 织物柔软剂 (如蒙脱石粘土和/或聚二甲基硅氧烷 (PDMS)) | 从 0 wt % 至 4 wt % |
| 抑泡剂 (如硅酮和/或脂肪酸) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 香料 (如香料微囊、香料提取物、液体香料、及其任何组合) | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 美观剂 (如遮光剂和着色剂) | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 防腐剂 (例如异噻唑啉酮、苯氧乙醇等) | 从 0 wt % 至 2 wt % |
| 其他 填料 (如水) | 光学 余量 |

[0250] 组合物2:单位剂量

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|--|--------------------|
| [0251] 阴离子去污表面活性剂 (如烷基苯磺酸盐、烷基醚硫酸盐、 α -烯烴磺酸盐、甲酯磺酸盐及其混合物, 如酸、中和盐、或如单乙醇胺加合物) | 从 0 wt % 至 50 wt % |
| 非离子去污表面活性剂 (如烷基乙氧基化醇、烷基多糖苷; 甘油聚醚-6 月桂酸酯、生物表面活性剂和混合物) | 从 0 wt % 至 50 wt % |
| 其他去污表面活性剂 (如两性离子去污表面活性剂、两性表面活性剂、季铵化合物及其混合物) | 从 0 wt % 至 5 wt % |

[0252]

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|---|--------------------|
| 羧酸盐聚合物 (如马来酸和丙烯酸的共聚物, 添加其他 PCA 聚合物, 例如 Sokalan CP 型、Acusol 型等) | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 聚乙二醇聚合物 (如包含聚乙酸乙烯酯侧链的聚乙二醇聚合物、PEG/醋酸乙烯酯共聚物 例如 Sokalan HP22 型) | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 聚酯或对苯二甲酸盐污垢释放聚合物 (如聚丙烯/聚对苯二甲酸乙二酯; 聚对苯二甲酸乙二酯; 磺化聚乙烯/聚对苯二甲酸乙二酯阴离子聚酯, 非离子聚合物, 实例是 REPEL-O-TEX® 系聚合物 (索尔维公司) (包括 REPEL-O-TEX® Crystal、REPEL-O-TEX® SRP-6 和 REPEL-O-TEX® SF-2), Marloquest® 聚合物 (如 Marloquest® SL (萨索尔公司)), 和/或 TexCare® 聚合物 (包括 TexCare® SRA-300、TexCare®、TexCare® SRN-170、TexCare® SRN-240、和 TexCare® SRN-325, 科莱恩特公司))。 | 从 0 至 5 wt % |
| 其他聚合物 (如胺聚合物、染料转移抑制剂聚合物、PVP-NO/聚乙烯吡咯烷酮 N-氧化物; 乙烯吡咯烷酮/乙烯基咪唑共聚物、己二胺衍生聚合物、乙氧基化多乙烯多胺; AZIRIDIN、HOMOPOLYMER、及其混合物, 例如 Sokalan HP 型、Sokalan K 型) | 从 0 wt % 至 20 wt % |
| 其他助洗剂 (如柠檬酸钠和/或柠檬酸、乙醇胺 (如 MEA、DEA 和 TEA)) | 从 0 wt % 至 15 wt % |
| 溶剂 (如 1,2-丙二醇、1,3-丙二醇、甘油、二丙二醇、甲基丙二醇、山梨醇和乙醇) | 10 wt % 至 60 wt % |
| 螯合剂 (如膦酸盐和氨基羧酸盐 (乙二胺-N'N'-二琥珀酸 (EDDS) 和/或羟乙基二膦酸 (HEDP)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸) (DTPMP)、二亚乙基三胺-五乙酸 (DTPA)、乙二胺四乙酸 (EDTA)、 | 从 0 wt % 至 4 wt % |

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|--|--------------------|
| 甲基甘氨酸二乙酸 (MGDA); 谷氨酸-N,N-二乙酸 (GLDA), 如酸、中和盐, 或如单乙醇胺加合物)) | |
| 光学增亮剂 (如 4,4'-二苯乙烯联苯型、FWA 5; FWA 7; FWA 11 和其类似物) | 从 0 wt % 至 2 wt % |
| 一种或多种经配制的蛋白酶 | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 一种或多种经配制的淀粉酶 | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 一种或多种经配制的纤维素酶 | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 一种或多种经配制的脂肪酶 | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 其他经配置的酶 (如木葡聚糖酶、角质酶、果胶裂解酶、甘露聚糖酶、漂白酶) | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| [0253] 一种或多种经配制的 DNA 酶 | 0.000001%-10% |
| 织物柔软剂 (如蒙脱石粘土和/或聚二甲基硅氧烷 (PDMS)) | 从 0 wt % 至 4 wt % |
| 抑泡剂 (如硅酮和/或脂肪酸 (如酸、中和盐, 或如单乙醇胺加合物)) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 香料 (如香料微囊、香料提取物、液体香料、及其任何组合) | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 美观剂 (如遮光剂和着色剂) | 从 0 wt % 至 2 wt % |
| 防腐剂 (如异噻唑啉酮、苯氧乙醇) | 从 0 wt % 至 2 wt % |
| 水 | 从 2 wt % 至 15 wt % |
| 其他 填料 (如溶剂) | 光学 余量 |

[0254] 组合物3粉末洗涤剂

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|--|--------------------|
| [0255] 阴离子去污表面活性剂 (如烷基苯磺酸盐、烷基醚硫酸盐、 α -烯烃磺酸盐、甲酯磺酸盐及其混合物) | 从 0 wt % 至 30 wt % |

[0256]

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|---|--------------------|
| 非离子去污表面活性剂 (如烷基乙氧基化醇、烷基多糖苷; 甘油聚醚-6 月桂酸酯、生物表面活性剂和混合物) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 其他去污表面活性剂 (如两性离子去污表面活性剂、两性表面活性剂、季铵化合物及其混合物) | 从 0 wt % 至 4 wt % |
| 羧酸盐聚合物 (如马来酸和丙烯酸的共聚物、聚丙烯酸酯、聚羧酸酯和其他 PCA 聚合物, 例如 Sokalan CP 型、Acusol 型等) | 从 0 wt % 至 6 wt % |
| 聚乙二醇聚合物 (如包含聚乙酸乙烯酯侧链的聚乙二醇聚合物) | 从 0 wt % 至 4 wt % |
| 聚酯或对苯二甲酸盐污垢释放聚合物 (如聚丙烯/聚对苯二甲酸乙二酯; 聚对苯二甲酸乙二酯; 磺化聚乙烯/聚对苯二甲酸乙二酯阴离子聚酯, 非离子聚合物, 实例是 REPEL-O-TEX® 系聚合物 (索尔维公司) (包括 REPEL-O-TEX® SRP-6 和 REPEL-O-TEX® SF-2), Marloquest® 聚合物 (如 Marloquest® SL (萨索尔公司)), 和/或 TexCare® 聚合物 (如 TexCare® SRA 300 F, 科莱恩特公司))。 | 0 至 2 wt % |
| 其他聚合物 (如胺聚合物、染料 PVP-NO/聚乙烯吡咯烷酮 N-氧化物; 乙烯吡咯烷酮/乙烯基咪唑共聚物、己二胺衍生聚合物、及其混合物, 例如 Sokalan HP 型、Sokalan K 型) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 纤维素聚合物 (如羧甲基纤维素、纤维素胶、甲基纤维素及其组合) | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 沸石助洗剂和磷酸盐助洗剂 (如沸石 4A 和/或三聚磷酸钠) | 从 0 wt % 至 50 wt % |
| 其他助洗剂 (如柠檬酸钠和/或柠檬酸) | 从 0 wt % 至 20 wt % |
| 碳酸盐 (如碳酸钠和/或碳酸氢钠) | 从 0 wt % 至 50 wt % |

[0257]

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|---|----------------------|
| 硅酸盐 (如硅酸钠) | 从 0 wt % 至 15 wt % |
| 可用氧的来源 (如过碳酸钠) | 从 0 wt % 至 30 wt % |
| 漂白活化剂 (如四乙酰基乙二胺 (TAED) 和/或壬酰基羟苯磺酸盐 (NOBS)) | 从 0 wt % 至 15 wt % |
| 漂白催化剂 (如基于氧氮环丙烷的漂白催化剂和/或过渡金属漂白催化剂) | 从 0 wt % 至 0.5 wt % |
| 其他漂白剂 (如还原漂白剂和/或预形成的过酸) | 从 0 wt % 至 10 wt % |
| 螯合剂 (如膦酸盐和氨基羧酸盐 (乙二胺-N'N'-二琥珀酸 (EDDS) 和/或羟乙基二膦酸 (HEDP)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸) (DTPMP)、二亚乙基三胺-五乙酸 (DTPA)、乙二胺四乙酸 (EDTA)、甲基甘氨酸二乙酸 (MGDA); 谷氨酸-N,N-二乙酸 (GLDA))) | 从 0 wt % 至 2 wt % |
| 光学增亮剂 (如 4,4'-二苯乙烯联苯型、FWA 5; FWA 7; FWA 11 和其类似物) | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 光漂白剂 (如磺化的酞菁锌和/或铝) | 从 0 wt % 至 0.5 wt % |
| 调色剂 (如直接紫 99、酸性红 52、酸性蓝 80、直接紫 9、溶剂紫 13 及其任何组合) | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 一种或多种经配制的蛋白酶 | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 一种或多种经配制的淀粉酶 | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 一种或多种经配制的纤维素酶 | 从 0.05 wt % 至 5 wt % |
| 一种或多种经配制的脂肪酶 | 从 0 至 1 wt % |
| 其他经配置的酶 (如木葡聚糖酶、角质酶、果胶裂解酶、甘露聚糖酶、漂白酶) | 从 0 wt % 至 2 wt % |
| 一种或多种经配制的 DNA 酶 | 从 0 wt % 至 5 wt % |
| 织物柔软剂 (如蒙脱石粘土和/或聚二甲基硅氧烷 (PDMS)) | 从 0 wt % 至 4 wt % |
| 絮凝剂 (如聚氧化乙烯) | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 抑泡剂 (如硅酮和/或脂肪酸) | 从 0 wt % 至 5 wt % |

| 成分 | 量 (按 wt % 计) |
|--|-------------------|
| 香料 (如香料微囊、喷雾香料、淀粉包封的香料协调剂、装载香料的沸石、及其组合物) | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| [0258] 美观剂 (如着色剂) | 从 0 wt % 至 1 wt % |
| 杂项 | 均从 0%-5% |
| 填料 (如硫酸钠、氯化钠和/或生物填料和/或水/溶剂) | 余量 |

[0259] 表面活性剂成分可以获得自巴斯夫公司 (BASF)、路德维希港、德国 (Lutensol (R)); 壳牌化学公司 (Shell Chemicals), 伦敦, 英国; 斯泰潘公司 (Stepan), 诺思菲尔德, III, 美国; 亨斯曼公司 (Huntsman), 盐湖城, 犹他州, 美国; 科莱恩公司, 苏尔茨巴赫市, 德国 (Praepagen (R))。

[0260] 三聚磷酸钠可以获得自罗地亚公司 (Rhodia), 巴黎, 法国。

[0261] 沸石可以获得自工业沸石 (英国) 有限公司 (Industrial Zeolite (UK) Ltd), 格雷士, 艾塞克斯, 英国。

[0262] 柠檬酸和柠檬酸钠可以获得自永本兹劳尔公司 (Jungbunzlauer), 巴塞尔, 瑞士。

[0263] NOBS 是壬酰基羟苯磺酸钠, 由伊士曼公司 (Eastman), 贝茨维尔, 阿肯色州, 美国提供。

[0264] TAED 是四乙酰乙二胺, 在科莱恩有限公司 (Clariant GmbH), 祖尔茨巴赫, 德国的 Peractive (R) 品牌下提供。

[0265] 碳酸钠和碳酸氢钠可以获得自索尔维公司, 布鲁塞尔, 比利时。

[0266] 聚丙烯酸酯、聚丙烯酸酯/马来酸酯共聚物可以获得自巴斯夫公司、路德维希港、德国。

[0267] Repel-0-Tex (R) 可以获得自罗地亚公司, 巴黎, 法国。

[0268] Texcare (R) 可以获得科莱恩特公司, 祖尔茨巴赫, 德国。过碳酸钠和碳酸钠可以获得自索尔维公司, 休斯顿, 德克萨斯州, 美国。

[0269] 乙二胺-N,N'-二琥珀酸的 Na 盐, (S,S) 异构体 (EDDS) 是通过联合奥泰公司 (Octel), 埃尔斯米尔港, 英国提供。

[0270] 羟基乙醇二膦酸盐 (HEDP) 由美国陶氏化学公司 (Dow Chemical), 米德兰, 密歇根州, 美国提供。

[0271] 酶 Savinase (R)、Savinase (R) Ultra、Stainzyme (R) Plus、Lipex (R)、Lipolex (R)、Lipoclean (R)、Celluclean (R)、Carezyme (R)、Natalase (R)、Stainzyme (R)、Stainzyme (R) Plus、Termamyl (R)、Termamyl (R) ultra、和 Mannaway (R) 可以获得自诺维信公司, 巴格斯瓦德, 丹麦。

[0272] 酶 Purafect (R)、FN3、FN4 和 Optisize 可以获得自杰能科国际公司, 帕洛阿尔托, 加利福尼亚州, 美国。

[0273] 直接紫 9 和 99 可以获得自巴斯夫公司、路德维希港、德国。

[0274] 溶剂紫 13 可以获得自宁波立兴化工有限公司 (Ningbo Lixing Chemical Co.,

Ltd.), 宁波, 浙江, 中国。

[0275] 增亮剂可以获得自汽巴精化有限公司, 巴塞尔, 瑞士。

[0276] 除非另外指明, 否则所有百分比和比率都是按重量计算。除非另外指明, 否则所有百分比和比率都是基于总组合物的活性浓度计算。

[0277] 应当理解的是贯穿本说明书给出的每一最大数值限度包括每一较低的数值限度, 如同此类较低数值限度在此被明确写出。贯穿本说明书给出的每一最小数值限度将包括每一较高的数值限度, 如同此类较高数值限度本文被明确写出。本说明书中所给出的每个数值范围将包括落入在这样更宽泛数值范围内的每一狭小的范围, 如同此类狭小的数值范围都在本文被明确写出。

[0278] 酶测定

[0279] 测定I: DNA酶活性的测试

[0280] 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, 其根据供应商的手册制备。简言之, 将21g的琼脂溶解于500ml水中, 然后在121°C下高压灭菌15min。经高压灭菌的琼脂在水浴中调整至48°C, 并且将20ml的琼脂倒入皮氏培养皿并且允许在室温下通过温育o/n进行固化。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。

[0281] 测定II: 纤维素酶活性的测试

[0282] 纤维素酶活性确定为酶催化 β -1, 4-葡聚糖 (纤维素) 中1, 4- β -D-糖苷键的水解的能力。出于本发明的目的, 使用AZCL-HE-纤维素酶 (来自麦格酶公司 (Megazyme)) 作为反应底物来确定纤维素酶活性。

[0283] 实例

[0284] 在EU或US洗涤剂中乙氧基化的聚 (乙烯亚胺) 聚合物的典型剂量为约4wt% - 5wt%。在以下的实例中, 研究了用纤维素酶或纤维素酶与DNA酶的组合部分或完全替代乙氧基化的聚 (乙烯亚胺) 聚合物的洗涤性能。

[0285] 测试方法和材料

[0286] 测试#1通过FSW方法进行污渍去除性能评估

[0287] 表1: 洗涤剂标准A2

[0288]

| | 标准A2 (wt%) |
|-----------|------------|
| Na-LAS | 12 |
| AEOS/SLES | 4 |
| AEO | 12 |
| 皂 | 3 (棕榈仁油皂) |
| 柠檬酸钠 | 3.9 |
| DTPMP Na7 | 1.5 |
| TEA | 2 |
| MPG | 2 |
| 乙醇 | 3.1 |
| 苯氧乙醇 | 0.5 |
| 脱矿质水 | 调节至100 |

[0289] 表2:AISE (国际肥皂、洗涤剂 and 保养产品协会) 污渍小块布样集

| 小块布 样号 | 名称 | 生产商 | 污渍类型 |
|-----------|-------------|--|-------------|
| 1 | WE5LTWKC | 沃里克装备公司 (Warwick-Equest) | 茶 |
| 2 | WE5ECWKC | 沃里克装备公司 | 咖啡 |
| 3 | WE5RWWKC | 沃里克装备公司 | 红酒 |
| 4 | CS15 | 测试材料 BV 中心 (Center For Testmaterials BV) | 果汁 |
| 5 | WE5TPWKC | 沃里克装备公司 | 蕃茄糊 |
| 6 | WE5IACBFWKC | 沃里克装备公司 | 胡萝卜婴儿食 品 |

[0290]

| 小块布 样号 | 名称 | 生产商 | 污渍类型 |
|-----------|------------|------------|-------------|
| 7 | WE5FSMWKC | 沃里克装备公司 | 法国挤压式芥 末 |
| 8 | CS44 | 测试材料 BV 中心 | 巧克力 |
| 9 | CS08 | 测试材料 BV 中心 | 草 |
| 10 | WE5GMWKC | 沃里克装备公司 | 草/泥 |
| 11 | WE5DASBWKC | 沃里克装备公司 | 血液 |
| 12 | C01 | 测试材料 BV 中心 | 未使用的机油 |
| 13 | WE5BBWKC | 沃里克装备公司 | 熟牛脂 |
| 14 | CS17 | 测试材料 BV 中心 | 化妆品 |

[0291]

[0292] 表3:用于污渍去除测试的FSW条件

| | | |
|--------|---------------------------|--|
| | EU 洗涤机 Miele WPS W5841 | 说明 |
| | 洗涤程序 | 棉/短 |
| | 水位 (附加水) | 含附加水约 15.6 L, 标准 EU |
| | 压载物 | 4 kg 总重量 (包括小块布样) 混合棉/聚酯比率为 65/35 |
| | 温度 | 40°C |
| [0293] | 洗涤时间 | 51 min 主洗涤和 3 个周期的冲洗 |
| | 水硬度 | 15°dH.Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ 比率 4:1:7.5 |
| | 洗涤剂 | 洗涤剂剂量: 3.3 g/L 标准 A2.其中背景酶 0.71%蛋白酶、0.1%淀粉酶、0.05%甘露聚糖酶。 |
| | 顶部添加物 | 本发明的酶、乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物和/或其它物质, 指的是全洗涤剂剂量的 wt%。 |
| | 测试小块布样 | 污渍小块布样集列于上表 2 中, 对于每台洗涤机, 每种小块布样各使用 2 片。 |
| [0294] | 污垢 | 8 x SBL2004 片 (购自 CFT) |
| | 重复 | 1 个洗涤周期, 6 次重复 |

[0295] 通用FSW洗涤程序说明如下:

[0296] a. 根据所希望的水硬度, 制备压载物和测试小块布样、以及含Ca/Mg的硬水。

[0297] b. 将洗涤剂溶于1L硬水并搅拌30min。

[0298] c. 为了白度性能测试, 将红黏土粉末 (经100目筛过滤的) 添加在1L洗涤剂溶液中, 并搅拌10min。请注意红黏土粉末通过50目筛过滤。对于其他洗涤测试 (例如, 污渍去除), 跳过此步骤c。

[0299] d. 将测试污渍、污垢压载物和压载物添加至洗涤机滚筒中。

[0300] e. 选择用于洗涤的参数: 程序、水位和温度。

[0301] f. 按下机器的启动按钮, 以开始注水。在此期间自动登记用水消耗。

[0302] g. 通过洗涤剂罐添加洗涤剂-红黏土混合物。用硬水冲洗烧杯, 并将冲洗水添加至

洗涤剂中直至将所有黏土粉末都添加至机器滚筒中。

[0303] h. 洗涤完成后,将测试小块布样从茶巾上取下并放置在托盘上进行干燥。

[0304] i. 可以重复几次上述程序以模拟现实生活条件下的灰化/黄化进程。

[0305] j. 测量干燥的小块布样/实物/示踪物在460nm处的反射。

[0306] 测试#2通过FSW方法进行白度性能评估

[0307] 通用FSW清洗程序说明与测试#1中描述的类似,详细条件和测试材料列于下表4-8中。

[0308] 表4:用于EU HDL(重垢液体)洗涤剂的FSW条件

| | | |
|--------|-----------------|---|
| [0309] | EU 洗涤剂 | 说明 |
| | Miele WPS W5841 | |
| | 洗涤程序 | 棉/短 |
| | 水位(附加水) | 含附加水约 15.6 L, 标准 EU |
| [0310] | 压载物 | 4 kg 总重量(包括小块布样) 混合棉/聚酯比率为 65/35 |
| | 温度 | 30°C |
| | 洗涤时间 | 51 min 主洗涤和 3 个周期的冲洗 |
| | 水硬度 | 15°dH.Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ 比率 4 : 1 : 7.5 |
| | 洗涤剂 | 洗涤剂剂量: 3.3 g/L 标准 A2.其中背景酶 0.8% 蛋白酶、0.1%淀粉酶、0.1%甘露聚糖酶 |
| | 顶部添加物 | 本发明的酶、乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物和 /或其它物质,指的是全洗涤剂剂量的 wt%。 |
| | 测试小块布样 | 白色示踪物集列于下表 5 中,对于每台洗衣机, 每种示踪物各使用 3 块。 |
| | 污垢 | 8 x SBL2004 片和红黏土粉末 2 g/L |
| | 重复 | 6 个洗涤周期 |

[0311] 表5:用于EU洗涤测试的白色示踪物集

[0312]

| 编号 | 名称 | 生产商 | 织物 | 注释 |
|----|----------|-----|-------------------|-------|
| 1 | W-10 A | CFT | WFK 标准棉 | 天然纺织品 |
| 2 | W-12 A | CFT | 棉毛巾 | 天然纺织品 |
| 3 | W-80 A | CFT | 针织棉 | 天然纺织品 |
| 4 | C-N-11 | CFT | 经漂白的机织棉 | 天然纺织品 |
| 5 | C-N-42 | CFT | 棉双罗纹双面针织物 | 天然纺织品 |
| 6 | T-266 | CFT | 粘胶纱印花薄织物 | 天然纺织品 |
| 7 | T-7422 | CFT | 聚酯/棉 50/50 管状平纹针织 | 混合纺织品 |
| 8 | P-C-N-01 | CFT | 聚酯/棉, 65/35, 机织 | 混合纺织品 |
| 9 | W-20 A | CFT | 聚酯/棉, 65/35, 机织 | 混合纺织品 |

[0313]

| | | | | |
|----|--------------------------------------|-----|-------------------------------------|-------|
| 10 | T-720 | CFT | 膨化涤纶 56T, 双层 针织平纹针织面料 (分散可染色) | 合成纺织品 |
| 11 | P-N-01 | CFT | 经漂白的机织聚酯 | 合成纺织品 |
| 12 | W-30 A | CFT | 聚酯 | 合成纺织品 |
| 13 | W-40 A | CFT | 聚酰胺 | 合成纺织品 |
| 14 | T-340 尼龙/ 莱卡 (Lycra), 81/19 | CFT | 尼龙/莱卡, 81/19 | 合成纺织品 |

[0314] 表6:标准洗涤剂J2.

[0315] J2代表典型的US HDL洗涤剂,并包括在US洗涤测试中。

[0316]

| | |
|-----|--------------|
| | 洗涤剂J2 (wt %) |
| AEO | 5 |

| | |
|----------------------|--------|
| 椰油酸(Coco fatty acid) | 1.0 |
| AEOS | 14.18 |
| AS | 5.0 |
| LAS | 5.15 |
| DTPA | 0.25 |
| 柠檬酸钠 | 4.0 |
| MEA | 0.30 |
| 乙醇 | 1.5 |
| MPG | 3.0 |
| NaOH | 0.70 |
| 甲酸盐 | 1.0 |
| 水 | 调节至100 |

[0317] 表7:用于US洗涤测试的白色示踪物集

[0318]

| 小块布 样号 | 名称 | 生产商 | 织物 | 注释 |
|-----------|----------|-----|--------------------------|-------|
| 1 | CN-42 | CFT | 棉双罗纹双 面针织物 | 天然纺织品 |
| 2 | W-80 A | CFT | 针织棉 | 天然纺织品 |
| 3 | CN-11 | CFT | 经漂白的机 织棉 | 天然纺织品 |
| 4 | W-10 A | CFT | WFK 标准棉 | 天然纺织品 |
| 5 | W-12 A | CFT | 棉毛巾 | 天然纺织品 |
| 6 | T-266 | CFT | 粘胶纱印花 薄织物 | 天然纺织品 |
| 7 | P-C-N-01 | CFT | 聚酯/棉, 65/35, 机织 | 混合纺织品 |
| 8 | W-20 A | CFT | 聚酯/棉, 65/35, 机织 | 混合纺织品 |
| 9 | T-7422 | CFT | 聚酯/棉 50/50 管状平纹针 织 | 混合纺织品 |
| 10 | W-27 A | CFT | 聚酯/棉 65/35 | 混合纺织品 |
| 11 | W-30 A | CFT | 聚酯 | 合成纺织品 |
| 12 | W-40 A | CFT | 聚酰胺 | 合成纺织品 |
| 13 | PAN-1 | CFT | 聚丙烯酸酯 | 合成纺织品 |
| 14 | 迪卡侬 T 恤 | 迪卡侬 | 100%聚酯 | 合成纺织品 |
| 15 | PN-33 | CFT | 100%聚酯绉 | 合成纺织品 |

[0319] 表8:用于US洗涤测试的FSW条件

[0320]

| | |
|----------|--------------------|
| US 洗涤机 | 说明 |
| 洗涤程序 | 正常, 超重 |
| 水位 (附加水) | 28 L |
| 压载物 | 3.6 kg 压载物 (65/35) |

| | |
|--------------|---|
| 温度 | 25°C |
| 洗涤时间 | 16 min 主洗涤和 1 个周期的冲洗 |
| 水硬度 | 6°dH.Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ 比率 2 : 1 : 4.5 |
| 洗涤剂 | 洗涤剂剂量: 1.8 g/L 标准 J2.其中背景酶 0.8%蛋白酶、0.1%淀粉酶、0.1%甘露聚糖酶 |
| [0321] 顶部添加物 | 本发明的酶、乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物和/或其它物质,指的是全洗涤剂剂量的 wt%。 |
| 测试小块布样 | 白色示踪物集列于上表 7 中,对于每台洗衣机,每种示踪物各使用 3 块。 |
| 污垢 | 15 x SBL2004 片和红黏土粉末 56 g/洗涤 |
| 重复 | 6 个洗涤周期 |

[0322] 测试#3通过TOM洗涤测试进行白度性能评估

[0323] Tergo-To-Meter (TOM) 是中等规模模式洗涤系统,它可以应用于同时测试16种不同洗涤条件。TOM基本上大型温控水浴,其中浸入了多达16个开口金属烧杯。每个烧杯构成一个小的顶装式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/聚合物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。

[0324] TOM标准洗涤系统主要用于在例如EU或AP洗涤条件下进行洗涤剂、酶和聚合物的中等规模测试。在TOM实验中,因素(如压载物与污垢的比率和织物与洗涤液的比率)可以变化。因此,TOM提供了小规模实验与更费时的全规模实验之间的联系。

[0325] 设定Terg-0-Tometer中的温度并且启动在水浴中旋转。等待温度调整(公差是+/-0.5°C)。应该对所有烧杯进行清洁并且使得烧杯不含先前测试物质的痕迹。

[0326] 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。洗涤溶液应在制备后30至60min内使用。

[0327] 将1L洗液添加到TOM烧杯中。将洗涤液在120rpm下进行搅拌,并且任选地将一种或多种酶或聚合物添加到该烧杯中。将小块布样撒到烧杯中并且然后是压载加载物。当小块布样和压载物添加到烧杯中时开始时间测量。将小块布样洗涤20或30分钟,此后,停止搅拌。

[0328] 随后,将洗涤加载物从TOM烧杯转移到筛,并且用冷自来水冲洗。在流动的水下,将测小块布样/示踪物从压载物上分离并转移到含冷自来水的5L烧杯中,持续5分钟。用手轻轻压出小块布样中的水,并且置于铺有纸的托盘上。允许小块布样干燥过夜,然后对其进行分析,如测量 Δ REM。

[0329] 在本发明中,用代表性的EU-Pod(或单位剂量)形式的洗涤剂(即洗涤剂U1)通过TOM洗涤法进一步评估白度性能。测试条件和材料列于下表9-11中。

[0330] 表9:洗涤剂U1的成分

| | | |
|--------|-----------------|----------|
| [0331] | | U1 (wt%) |
| | LAS (酸) | 21 |
| | AEO | 25 |
| | 棕榈仁脂肪酸 | 9 |
| | MPG | 15 |
| | 甘油 (85%) | 8 |
| | 水 | 10 |
| | MEA | 6.8 |
| | DTMPA (42%) | 0.5 |
| | 空隙 (包括香料、酶、聚合物) | 4.7 |

[0332] 表10: TOM洗涤条件

| | | |
|--------|------------|--|
| [0333] | 洗涤参数 | 25°C, 1.8 g/L 洗涤剂 U1, 15°dH, Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ 比率 4 : 1 : 7.5 |
| | 洗涤周期 | 1 |
| | 水体积 | 1 L/烧杯 |
| | 转速 | 120 rpm |
| | 洗涤时间 | 60 min |
| | 污垢压载物, 每烧杯 | ½ SBL2004+ 4 g/L 红黏土粉末 (经 100 目筛过滤的) |
| | 示踪小块布样 | 白色示踪物列于下表 11 中。 每个烧杯每种示踪物各 3 块。 |

[0334] 表11: 用于EU TOM洗涤测试的白色示踪物集

| 小块布 样号 | 名称 | 生产商 | 织物 | 注释 |
|-----------|---------|-----|-----------------------|-------|
| 1 | CN-42 | CFT | 棉双罗纹双面针 织物 | 天然纺织品 |
| 2 | W-80 A | CFT | 针织棉 | 天然纺织品 |
| 3 | CN-11 | CFT | 经漂白的机织棉 | 天然纺织品 |
| 4 | T-266 | CFT | 粘胶纱印花薄织 物 | 天然纺织品 |
| [0335] 5 | P-CN-01 | CFT | 聚酯/棉, 65/35, 机织 | 混合纺织品 |
| 6 | W-20 A | CFT | 聚酯/棉, 65/35, 机织 | 混合纺织品 |
| 7 | T-7422 | CFT | 聚酯/棉 50/50 管状 平纹针织 | 混合纺织品 |
| 8 | P-N-01 | CFT | 经漂白的机织聚 酯 | 合成纺织品 |
| 9 | 迪卡侬 T 恤 | 迪卡侬 | 100%聚酯 | 合成纺织品 |
| 10 | PN-33 | CFT | 100%聚酯绉 | 合成纺织品 |

[0336] 测试#4在EU洗涤条件下通过FSW对实物进行防暗淡评估

[0337] 表12:EU FSW条件。

[0338] SW程序说明与测试#1中描述的程序说明类似。

| | |
|---------------------------|--------------------------------------|
| EU 洗衣机 Miele WPS W5841 | 说明 |
| 洗涤程序 | 棉/短 |
| 水位 (附加水) | 含附加水 15.6 L, 标准 EU |
| [0339] 压载物 | 4 kg 总重量 (包括小块布样) 混合棉/聚酯比率为 65/35 |
| 温度 | 30°C |
| 洗涤时间 | 51 min 主洗涤和 3 个周期的冲洗 |

| | | |
|--------|--------|---|
| | 水硬度 | 15°dH.Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /HCO ₃ ⁻ 比率 4 : 1 : 7.5 |
| | 洗涤剂 | 洗涤剂剂量: 3.3 g/L 标准 A2.其中背景酶 0.71%蛋白酶、0.1%淀粉酶、0.05%甘露聚糖酶 |
| | 顶部添加物 | 本发明的酶、乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物和/或其它物质,指的是全洗涤剂剂量的 wt%。 |
| [0340] | 测试小块布样 | 白色衣领、枕套和 T 恤衫购自 CN 当地公司 Fakai。衣领和 T 恤衫由男性工人穿 3-5 天,枕套在洗涤之前已使用一个月。将已使用过的实物切割成 2 个相等的块,并通过 2 种条件洗涤。对于每台洗衣机,包括 10 块半使用过 (1/2 worn) 的衣领、4 块半使用过的枕套和 4 块半使用过的 T 恤。 |
| | 污垢 | 8 x SBL2004 片 |
| | 重复 | 1 个洗涤周期 |

[0341] 对实物进行小组评估

[0342] 小组测试基于8名小组成员的视觉清洁外观/暗淡评估。为增加小组差异,将真实物品剪成2等块并在成对比较的2种条件下洗涤。

[0343] 要求小组成员根据成对洗涤后每个实物品的清洁外观(或暗淡)给出其偏好。偏好%是偏爱某个测试条件的小组成员的百分比(在此试验中,偏爱某一条件而非另一条件(例如,参考)的小组成员的数目除以总共8名小组成员,计算成%)。

[0344] 光反射率测量

[0345] 洗涤并冲洗后,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。还可以将亮度或白度表示为反射(REM或R),反射是当用白光照射时,从测试材料反射或发射的光的量度。使用孔径很小的Macbeth Color Eye 7000反射分光光度计在460nm处测量纺织品的反射率。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。根据制造商的方案进行测量。洗涤性能可由所有测试小块布样上的反射值总和或者所有测试小块布样上的ΔREM总和来指示。ΔREM是相对于相应的参考而言。

[0346] 实例1:污渍去除性能

[0347] 用纤维素酶部分替代乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物的污渍去除性能是在EU FSW条件下对14种AISE污渍进行的。测试材料和洗涤条件描述于测试#1中。作为乙氧基化的聚(乙烯亚胺)聚合物,使用了购自BASF公司的Sokalan HP20(缩写为HP20)。结果示于下表E1中。

[0348] 从表E1清楚地看出,当HP20从常规水平(4wt%)降低至1wt%时,没有性能损失(总R 705相比于706),但是当HP20从洗涤剂中被完全去除时,观察到轻微的性能损失(总R 705相比于699)。在正常水平的HP20和降低水平的HP20下,添加纤维素酶均可以略微改善洗涤性能。

[0349] 表E1:对14种AISE污渍的反射总和

| HP 20 (洗涤剂中的 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:11 (洗涤剂中 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:12 (洗涤剂中 wt%) | 反射总和 (总 R) |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------|
| 4 (参考) | 0 | 0 | 705 |
| 4 | 0.2 | 0 | 712 |
| [0350] 1 | 0 | 0 | 706 |
| 1 | 0.2 | 0 | 708 |
| 1 | 0 | 0.2 | 707 |
| 0 | 0 | 0 | 699 |
| 0 | 0 | 0.2 | 707 |
| 0 | 0.2 | 0 | 700 |

[0351] 实例2:对白色示踪物进行白度性能评估

[0352] 实例2a:在EU和US两者洗涤条件下,用典型的EU和US HDL型洗涤剂通过FSW方法对宽范围的白色示踪物进行白度性能评估。实验细节如测试#2中所述。洗涤结果汇总于下表E2-E3中。

[0353] 表E2:在EU FSW条件下洗涤的白色示踪物的 Δ 反射(Δ REM)总和

| HP 20 (洗涤剂中的 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:11 (洗涤液中 ppm) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:12 (洗涤液中 ppm) | 天然纺织品的 Δ REM的总和 | 混合纺织品的 Δ REM的总和 | 合成纺织品的 Δ REM的总和 |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| [0354] 5 (参考) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 0 | 0 | 5 | 2 | -3 |
| 1 | 0.08 | 0 | 16 | 5 | -5 |
| 1 | 0 | 0.08 | 40 | 14 | -6 |
| 1 | 0 | 0.24 | 45 | 15 | -5 |

[0355] 表E3:在US FSW条件下洗涤的白色示踪物的 Δ 反射(Δ REM)总和

| HP 20 (洗涤剂中的 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:11 (洗涤剂中 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:12 (洗涤剂中 wt%) | 天然纺织品的 Δ REM的总和 | 混合纺织品的 Δ REM的总和 | 合成纺织品的 Δ REM的总和 |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| [0356] 5 (参考) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 0 | 0 | 9 | -1 | -2 |
| 1 | 0.12 | 0 | 24 | 4 | -4 |
| 1 | 0 | 0.11 | 50 | 18 | 0 |
| 1 | 0 | 0.21 | 59 | 25 | -6 |

[0357] 根据表E2和E3,具有低HP20水平(1wt%)的洗涤剂主要在合成纺织品上表现出降低的白度性能。向具有低水平HP20的洗涤剂中添加纤维素酶提供了改善的白度性能,这表明用纤维素酶部分替代HP20聚合物可以提供另外的白度益处。

[0358] 实例2b:用典型的EU Pod(或单位剂量)类型的洗涤剂通过TOM方法对宽范围的白色示踪物进行进一步白度性能评估。实验细节如测试#3中所述。洗涤结果汇总于下表E4中。

[0359] 表E4:在EU TOM条件下洗涤的白色示踪物的 Δ 反射(Δ REM)总和

| | HP 20 (洗涤剂中的 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:11 (洗涤剂中 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:12 (洗涤剂中 wt%) | 天然纺织品的 Δ REM 的总和 | 混合纺织品的 Δ REM 的总和 | 合成纺织品的 Δ REM 的总和 |
|--------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| [0360] | 5 (参考) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 | 0 | 0 | -4 | -8 | -3 |
| | 1 | 0.08 | 0 | 5 | -2 | -4 |
| | 1 | 0.24 | 0 | 12 | 5 | -1 |
| | 1 | 0 | 0.1 | 64 | 37 | -2 |
| | 1 | 0 | 0.3 | 72 | 42 | 0 |

[0361] 从表E4可以看出,对于EU Pod洗涤剂,将HP20聚合物的量从5wt%的常规水平降低至1wt%会导致测试白色示踪物的白度性能损失。添加纤维素酶可以弥补白度损失,或者甚至大大改善了对天然纺织品和混合纺织品的白度性能。

[0362] 实例3:对实物进行洗涤性能评估

[0363] 也通过FSW方法对实物进行整体洗涤性能评估。实验细节如测试#3中所述。

[0364] 表E5:测试条件

| 条件代码 | HP 20 (洗涤剂中的 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:11 (洗涤剂中 wt%) | 经配制的纤维素酶 SEQ ID NO:12 (洗涤剂中 wt%) | 经配制的DNA酶 SEQ ID NO 14 (洗涤剂中 wt%) | |
|--------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----|
| [0365] | 1 (参考) | 4 | 0.2 | 0 | 0 |
| | 2 | 1 | 0.2 | 0 | 0 |
| | 3 | 1 | 0 | 0.2 | 0 |
| | 4 | 1 | 0 | 0.2 | 0.8 |

[0366] 在上表中,条件1代表含有常规量聚合物(HP20)和纤维素酶的典型商业洗涤剂,因此条件1在此用作参考洗涤剂。条件2是与参考相比具有减少量的聚合物,并且包含此减少量的聚合物以研究当HP20聚合物水平减少时,是否存在对实物的性能损失。

[0367] 表E6:测试条件的偏好%

[0368]

| | 对衣领的 平均偏好% | 对枕套的平 均偏好% | 对T恤的平 均偏好% | 对所有物品的 平均偏好% |
|----------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|
| 偏爱条件2 而非条件1 | 44% | 10% | 53% | 36% |
| 偏爱条件3 而非条件1 | 55% | 43% | 53% | 50% |
| 偏爱条件4 而非条件1 | 69% | 58% | 70% | 66% |
| 偏爱条件4 而非条件3 | 58% | 75% | 63% | 65% |

[0369] 从表E6所示的组测试结果清楚地看出,当减少HP20聚合物的量时,存在对实物(衣领、枕套和T恤)的性能损失,因为条件2相对于条件1不太优选(36%)。剂量为0.2wt%的纤维素酶SEQ ID NO:12可以弥补该损失(条件3与条件1一样优选)。通过将DNA酶SEQ ID NO:14与纤维素酶组合可以进一步改善实物的整体清洁度(条件4比条件1或3更优选)。

Ser Ser Tyr Pro Asp Gly Thr Arg Val Leu Phe Ile Val Gln
 100 105 110
 <210> 4
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> 粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)
 <400> 4
 Asp Thr Leu Glu Ser Ile Asp Asn Cys Ala Val Gly Cys Pro Thr Gly
 1 5 10 15
 Gly Ser Ser Asn Val Ser Ile Val Arg His Ala Tyr Thr Leu Asn Asn
 20 25 30
 Asn Ser Thr Thr Lys Phe Ala Asn Trp Val Ala Tyr His Ile Thr Lys
 35 40 45
 Asp Thr Pro Ala Ser Gly Lys Thr Arg Asn Trp Lys Thr Asp Pro Ala
 50 55 60
 Leu Asn Pro Ala Asp Thr Leu Ala Pro Ala Asp Tyr Thr Gly Ala Asn
 65 70 75 80
 Ala Ala Leu Lys Val Asp Arg Gly His Gln Ala Pro Leu Ala Ser Leu
 85 90 95
 Ala Gly Val Ser Asp Trp Glu Ser Leu Asn Tyr Leu Ser Asn Ile Thr
 100 105 110
 Pro Gln Lys Ser Asp Leu Asn Gln Gly Ala Trp Ala Arg Leu Glu Asp
 115 120 125
 Gln Glu Arg Lys Leu Ile Asp Arg Ala Asp Ile Ser Ser Val Tyr Thr
 130 135 140
 Val Thr Gly Pro Leu Tyr Glu Arg Asp Met Gly Lys Leu Pro Gly Thr
 145 150 155 160
 Gln Lys Ala His Thr Ile Pro Ser Ala Tyr Trp Lys Val Ile Phe Ile
 165 170 175
 Asn Asn Ser Pro Ala Val Asn His Tyr Ala Ala Phe Leu Phe Asp Gln
 180 185 190
 Asn Thr Pro Lys Gly Ala Asp Phe Cys Gln Phe Arg Val Thr Val Asp
 195 200 205
 Glu Ile Glu Lys Arg Thr Gly Leu Ile Ile Trp Ala Gly Leu Pro Asp
 210 215 220
 Asp Val Gln Ala Ser Leu Lys Ser Lys Pro Gly Val Leu Pro Glu Leu
 225 230 235 240
 Met Gly Cys Lys Asn
 245

<210> 5
 <211> 182
 <212> PRT
 <213> 病研所芽孢杆菌 (Bacillus Idriensis)
 <400> 5
 Leu Pro Pro Gly Thr Pro Ser Lys Ser Thr Ala Gln Ser Gln Leu Asn
 1 5 10 15
 Ala Leu Thr Val Gln Thr Glu Gly Ser Met Thr Gly Tyr Ser Arg Asp
 20 25 30
 Lys Phe Pro His Trp Ile Ser Gln Gly Asn Gly Cys Asp Thr Arg Gln
 35 40 45
 Val Val Leu Gln Arg Asp Ala Asp Tyr Tyr Ser Gly Thr Cys Pro Val
 50 55 60
 Thr Ser Gly Lys Trp Tyr Ser Tyr Tyr Asp Gly Val Thr Leu Tyr Asn
 65 70 75 80
 Pro Ser Asp Leu Asp Ile Asp His Val Val Ala Leu Ala Glu Ala Trp
 85 90 95
 Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Thr Thr Asp Lys Arg Glu Asp Phe Ala
 100 105 110
 Asn Asp Leu Ser Gly Thr Gln Leu Ile Ala Val Ser Ala Ser Thr Asn
 115 120 125
 Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp Pro Ser Thr Trp Gln Pro Pro Arg Ser
 130 135 140
 Gly Ala Ala Cys Gly Tyr Ala Lys Trp Trp Ile Ser Thr Lys Tyr Lys
 145 150 155 160
 Trp Asn Leu Asn Leu Gln Ser Ser Glu Lys Thr Ala Leu Gln Ser Met
 165 170 175
 Leu Asn Ser Cys Ser Tyr
 180

<210> 6
 <211> 182
 <212> PRT
 <213> 食物芽孢杆菌 (Bacillus cibi)
 <400> 6
 Thr Pro Pro Gly Thr Pro Ser Lys Ser Ala Ala Gln Ser Gln Leu Asn
 1 5 10 15
 Ala Leu Thr Val Lys Thr Glu Gly Ser Met Ser Gly Tyr Ser Arg Asp
 20 25 30
 Leu Phe Pro His Trp Ile Ser Gln Gly Ser Gly Cys Asp Thr Arg Gln

| | | |
|---|-----|-----|
| 35 | 40 | 45 |
| Val Val Leu Lys Arg Asp Ala Asp Ser Tyr Ser Gly Asn Cys Pro Val | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Thr Ser Gly Ser Trp Tyr Ser Tyr Tyr Asp Gly Val Thr Phe Thr Asn | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Pro Ser Asp Leu Asp Ile Asp His Ile Val Pro Leu Ala Glu Ala Trp | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Thr Thr Ser Lys Arg Gln Asp Phe Ala | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Asn Asp Leu Ser Gly Pro Gln Leu Ile Ala Val Ser Ala Ser Thr Asn | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp Pro Ser Thr Trp Gln Pro Pro Arg Ser | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Gly Ala Ala Cys Gly Tyr Ser Lys Trp Trp Ile Ser Thr Lys Tyr Lys | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Trp Gly Leu Ser Leu Gln Ser Ser Glu Lys Thr Ala Leu Gln Gly Met | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Leu Asn Ser Cys Ser Tyr | | |
| 180 | | |

<210> 7

<211> 182

<212> PRT

<213> 堀越氏芽孢杆菌(Bacillus horikoshii)

<400> 7

| | | |
|---|-----|-----|
| Leu Pro Pro Gly Thr Pro Ser Lys Ser Glu Ala Gln Ser Gln Leu Asn | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Ser Leu Thr Val Lys Ser Glu Asp Pro Met Thr Gly Tyr Ser Arg Asp | | |
| 20 | 25 | 30 |
| His Phe Pro His Trp Ser Gly Gln Gly Asn Gly Cys Asp Thr Arg Gln | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Ile Val Leu Gln Arg Asp Ala Asp Tyr Tyr Ser Gly Asn Cys Pro Val | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Thr Ser Gly Lys Trp Tyr Ser Tyr Phe Asp Gly Val Ile Val Tyr Ser | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Pro Ser Glu Ile Asp Ile Asp His Val Val Pro Leu Ala Glu Ala Trp | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Thr Thr Glu Gln Arg Arg Ser Phe Ala | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Asn Asp Leu Asn Gly Pro Gln Leu Ile Ala Val Thr Ala Ser Val Asn | | |

| | | |
|-----------------------------|-------------------------|-----------------|
| 115 | 120 | 125 |
| Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp | Pro Ser Thr Trp Gln | Pro Pro Arg Ala |
| 130 | 135 | 140 |
| Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Ala | Lys Trp Trp Ile Asn Thr | Lys His Arg |
| 145 | 150 | 155 |
| Trp Asn Leu His Leu Gln Ser | Ser Glu Lys Ser Ala Leu | Gln Thr Met |
| | 165 | 170 |
| Leu Asn Gly Cys Val Tyr | | |
| 180 | | |
| <210> 8 | | |
| <211> 182 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> 芽孢杆菌属物种(Bacillus sp.) | | |
| <400> 8 | | |
| Phe Pro Pro Glu Ile Pro Ser | Lys Ser Thr Ala Gln Ser | Gln Leu Asn |
| 1 | 5 | 10 |
| Ser Leu Thr Val Lys Ser Glu | Asp Ala Met Thr Gly Tyr | Ser Arg Asp |
| | 20 | 25 |
| Lys Phe Pro His Trp Ile Ser | Gln Gly Asp Gly Cys Asp | Thr Arg Gln |
| | 35 | 40 |
| Met Val Leu Lys Arg Asp Ala | Asp Tyr Tyr Ser Gly Ser | Cys Pro Val |
| | 50 | 55 |
| Thr Ser Gly Lys Trp Tyr Ser | Tyr Tyr Asp Gly Ile Thr | Val Tyr Ser |
| 65 | 70 | 75 |
| Pro Ser Glu Ile Asp Ile Asp | His Ile Val Pro Leu Ala | Glu Ala Trp |
| | 85 | 90 |
| Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp | Thr Thr Glu Lys Arg Arg | Asn Phe Ala |
| | 100 | 105 |
| Asn Asp Leu Asn Gly Pro Gln | Leu Ile Ala Val Thr Ala | Ser Val Asn |
| | 115 | 120 |
| Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp | Pro Ser Thr Trp Gln Pro | Pro Arg Ser |
| 130 | 135 | 140 |
| Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Ala | Lys Met Trp Val Asn Thr | Lys Tyr Arg |
| 145 | 150 | 155 |
| Trp Gly Leu His Leu Gln Ser | Ala Glu Lys Ser Gly Leu | Glu Ser Met |
| | 165 | 170 |
| Leu Asn Thr Cys Ser Tyr | | |
| 180 | | |
| <210> 9 | | |

<211> 182

<212> PRT

<213> 芽孢杆菌属物种(Bacillus sp.)

<400> 9

Leu Pro Pro Gly Thr Pro Ser Lys Ser Glu Ala Gln Ser Gln Leu Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Thr Val Lys Pro Glu Asp Pro Met Thr Gly Tyr Ser Arg Asp
 20 25 30
 His Phe Pro His Trp Ile Ser Gln Gly Asn Gly Cys Asn Thr Arg Gln
 35 40 45
 Ile Val Leu Gln Arg Asp Ala Asp Tyr Tyr Ser Gly Asn Cys Pro Val
 50 55 60
 Thr Thr Gly Lys Trp Tyr Ser Tyr Phe Asp Gly Val Ile Val Tyr Ser
 65 70 75 80
 Pro Ser Glu Ile Asp Ile Asp His Ile Val Pro Leu Ala Glu Ala Trp
 85 90 95
 Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Thr Ala Glu Gln Arg Arg Asn Phe Ala
 100 105 110
 Asn Asp Leu Asn Gly Pro Gln Leu Ile Ala Val Thr Ala Ser Val Asn
 115 120 125
 Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp Pro Ser Thr Trp Gln Pro Pro Arg Thr
 130 135 140
 Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Ala Lys Trp Trp Ile Asn Thr Lys Tyr Arg
 145 150 155 160
 Trp Gly Leu His Leu Gln Ser Ser Glu Lys Ser Ser Leu Gln Ser Met
 165 170 175
 Leu Asn Gly Cys Ala Tyr
 180

<210> 10

<211> 415

<212> PRT

<213> 特异腐质霉(Humicola insolens)

<400> 10

Gln Lys Pro Gly Glu Thr Lys Glu Val His Pro Gln Leu Thr Thr Phe
 1 5 10 15
 Arg Cys Thr Lys Arg Gly Gly Cys Lys Pro Ala Thr Asn Phe Ile Val
 20 25 30
 Leu Asp Ser Leu Ser His Pro Ile His Arg Ala Glu Gly Leu Gly Pro
 35 40 45

Gly Gly Cys Gly Asp Trp Gly Asn Pro Pro Pro Lys Asp Val Cys Pro
 50 55 60
 Asp Val Glu Ser Cys Ala Lys Asn Cys Ile Met Glu Gly Ile Pro Asp
 65 70 75 80
 Tyr Ser Gln Tyr Gly Val Thr Thr Asn Gly Thr Ser Leu Arg Leu Gln
 85 90 95
 His Ile Leu Pro Asp Gly Arg Val Pro Ser Pro Arg Val Tyr Leu Leu
 100 105 110
 Asp Lys Thr Lys Arg Arg Tyr Glu Met Leu His Leu Thr Gly Phe Glu
 115 120 125
 Phe Thr Phe Asp Val Asp Ala Thr Lys Leu Pro Cys Gly Met Asn Ser
 130 135 140
 Ala Leu Tyr Leu Ser Glu Met His Pro Thr Gly Ala Lys Ser Lys Tyr
 145 150 155 160
 Asn Pro Gly Gly Ala Tyr Tyr Gly Thr Gly Tyr Cys Asp Ala Gln Cys
 165 170 175
 Phe Val Thr Pro Phe Ile Asn Gly Leu Gly Asn Ile Glu Gly Lys Gly
 180 185 190
 Ser Cys Cys Asn Glu Met Asp Ile Trp Glu Ala Asn Ser Arg Ala Ser
 195 200 205
 His Val Ala Pro His Thr Cys Asn Lys Lys Gly Leu Tyr Leu Cys Glu
 210 215 220
 Gly Glu Glu Cys Ala Phe Glu Gly Val Cys Asp Lys Asn Gly Cys Gly
 225 230 235 240
 Trp Asn Asn Tyr Arg Val Asn Val Thr Asp Tyr Tyr Gly Arg Gly Glu
 245 250 255
 Glu Phe Lys Val Asn Thr Leu Lys Pro Phe Thr Val Val Thr Gln Phe
 260 265 270
 Leu Ala Asn Arg Arg Gly Lys Leu Glu Lys Ile His Arg Phe Tyr Val
 275 280 285
 Gln Asp Gly Lys Val Ile Glu Ser Phe Tyr Thr Asn Lys Glu Gly Val
 290 295 300
 Pro Tyr Thr Asn Met Ile Asp Asp Glu Phe Cys Glu Ala Thr Gly Ser
 305 310 315 320
 Arg Lys Tyr Met Glu Leu Gly Ala Thr Gln Gly Met Gly Glu Ala Leu
 325 330 335
 Thr Arg Gly Met Val Leu Ala Met Ser Ile Trp Trp Asp Gln Gly Gly
 340 345 350
 Asn Met Glu Trp Leu Asp His Gly Glu Ala Gly Pro Cys Ala Lys Gly

| | | |
|---|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
| Asp His His Thr Met Tyr Thr Val His Phe Tyr Thr Gly Ser His Ala | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Ala Ser Thr Glu Ser Tyr Pro Pro Glu Thr Pro Asn Ser Glu Arg Gly | | 240 |
| | 245 | 250 |
| Asn Val Met Ser Asn Thr Arg Tyr Ala Leu Glu Asn Gly Val Ala Val | | 255 |
| | 260 | 265 |
| Phe Ala Thr Glu Trp Gly Thr Ser Gln Ala Asn Gly Asp Gly Gly Pro | | 270 |
| | 275 | 280 |
| Tyr Phe Asp Glu Ala Asp Val Trp Ile Glu Phe Leu Asn Glu Asn Asn | | 285 |
| 290 | 295 | 300 |
| Ile Ser Trp Ala Asn Trp Ser Leu Thr Asn Lys Asn Glu Val Ser Gly | | 305 |
| | 310 | 315 |
| Ala Phe Thr Pro Phe Glu Leu Gly Lys Ser Asn Ala Thr Asn Leu Asp | | 320 |
| | 325 | 330 |
| Pro Gly Pro Asp His Val Trp Ala Pro Glu Glu Leu Ser Leu Ser Gly | | 335 |
| | 340 | 345 |
| Glu Tyr Val Arg Ala Arg Ile Lys Gly Val Asn Tyr Glu Pro Ile Asp | | 350 |
| 355 | 360 | 365 |
| Arg Thr Lys Tyr Thr Lys Val Leu Trp Asp Phe Asn Asp Gly Thr Lys | | 370 |
| | 375 | 380 |
| Gln Gly Phe Gly Val Asn Ser Asp Ser Pro Asn Lys Glu Leu Ile Ala | | 385 |
| 385 | 390 | 395 |
| Val Asp Asn Glu Asn Asn Thr Leu Lys Val Ser Gly Leu Asp Val Ser | | 400 |
| | 405 | 410 |
| Asn Asp Val Ser Asp Gly Asn Phe Trp Ala Asn Ala Arg Leu Ser Ala | | 415 |
| | 420 | 425 |
| Asp Gly Trp Gly Lys Ser Val Asp Ile Leu Gly Ala Glu Lys Leu Thr | | 430 |
| 435 | 440 | 445 |
| Met Asp Val Ile Val Asp Glu Pro Thr Thr Val Ala Ile Ala Ala Ile | | 450 |
| | 455 | 460 |
| Pro Gln Ser Ser Lys Ser Gly Trp Ala Asn Pro Glu Arg Ala Val Arg | | 465 |
| 465 | 470 | 475 |
| Val Asn Ala Glu Asp Phe Val Gln Gln Thr Asp Gly Lys Tyr Lys Ala | | 480 |
| | 485 | 490 |
| Gly Leu Thr Ile Thr Gly Glu Asp Ala Pro Asn Leu Lys Asn Ile Ala | | 495 |
| | 500 | 505 |
| Phe His Glu Glu Asp Asn Asn Met Asn Asn Ile Ile Leu Phe Val Gly | | 510 |
| 515 | 520 | 525 |

Thr Asp Ala Ala Asp Val Ile Tyr Leu Asp Asn Ile Lys Val Ile Gly
 530 535 540
 Thr Glu Val Glu Ile Pro Val Val His Asp Pro Lys Gly Glu Ala Val
 545 550 555 560
 Leu Pro Ser Val Phe Glu Asp Gly Thr Arg Gln Gly Trp Asp Trp Ala
 565 570 575
 Gly Glu Ser Gly Val Lys Thr Ala Leu Thr Ile Glu Glu Ala Asn Gly
 580 585 590
 Ser Asn Ala Leu Ser Trp Glu Phe Gly Tyr Pro Glu Val Lys Pro Ser
 595 600 605
 Asp Asn Trp Ala Thr Ala Pro Arg Leu Asp Phe Trp Lys Ser Asp Leu
 610 615 620
 Val Arg Gly Glu Asn Asp Tyr Val Ala Phe Asp Phe Tyr Leu Asp Pro
 625 630 635 640
 Val Arg Ala Thr Glu Gly Ala Met Asn Ile Asn Leu Val Phe Gln Pro
 645 650 655
 Pro Thr Asn Gly Tyr Trp Val Gln Ala Pro Lys Thr Tyr Thr Ile Asn
 660 665 670
 Phe Asp Glu Leu Glu Glu Ala Asn Gln Val Asn Gly Leu Tyr His Tyr
 675 680 685
 Glu Val Lys Ile Asn Val Arg Asp Ile Thr Asn Ile Gln Asp Asp Thr
 690 695 700
 Leu Leu Arg Asn Met Met Ile Ile Phe Ala Asp Val Glu Ser Asp Phe
 705 710 715 720
 Ala Gly Arg Val Phe Val Asp Asn Val Arg Phe Glu Gly Ala Ala Thr
 725 730 735
 Thr Glu Pro Val Glu Pro Glu Pro Val Asp Pro Gly Glu Glu Thr Pro
 740 745 750
 Pro Val Asp Glu Lys Glu Ala Lys Lys Glu Gln Lys Glu Ala Glu Lys
 755 760 765
 Glu Glu Lys Glu Glu
 770
 <210> 12
 <211> 524
 <212> PRT
 <213> 多黏类芽孢杆菌 (Paenibacillus polymyxa)
 <400> 12
 Val Val His Gly Gln Thr Ala Lys Thr Ile Thr Ile Lys Val Asp Thr
 1 5 10 15

Phe Lys Asp Arg Lys Pro Ile Ser Pro Tyr Ile Tyr Gly Thr Asn Gln
 20 25 30
 Asp Leu Ala Gly Asp Glu Asn Met Ala Ala Arg Arg Leu Gly Gly Asn
 35 40 45
 Arg Met Thr Gly Tyr Asn Trp Glu Asn Asn Met Ser Asn Ala Gly Ser
 50 55 60
 Asp Trp Gln His Ser Ser Asp Asn Tyr Leu Cys Ser Asn Gly Gly Leu
 65 70 75 80
 Thr Gln Ala Glu Cys Glu Lys Pro Gly Ala Val Val Thr Ser Phe His
 85 90 95
 Asp Gln Ser Leu Lys Leu Gly Thr Tyr Ser Leu Val Thr Leu Pro Met
 100 105 110
 Ala Gly Tyr Val Ala Ala Asp Gly Asn Gly Ser Val Gln Glu Ser Glu
 115 120 125
 Ala Ala Pro Ser Ala Arg Trp Asn Gln Val Val Asn Ala Lys Asn Ala
 130 135 140
 Pro Phe Gln Leu Gln Pro Asp Leu Asn Asp Asn Tyr Val Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Glu Phe Val His Phe Leu Val Asn Lys Tyr Gly Thr Ala Ser Thr Lys
 165 170 175
 Ala Gly Val Lys Gly Tyr Ala Leu Asp Asn Glu Pro Ala Leu Trp Ser
 180 185 190
 His Thr His Pro Arg Ile His Pro Glu Lys Val Gly Ala Lys Glu Leu
 195 200 205
 Val Asp Arg Ser Val Ser Leu Ser Lys Ala Val Lys Ala Ile Asp Ala
 210 215 220
 Gly Ala Glu Val Phe Gly Pro Val Leu Tyr Gly Phe Gly Ala Tyr Lys
 225 230 235 240
 Asp Leu Gln Thr Ala Pro Asp Trp Asp Ser Val Lys Gly Asn Tyr Ser
 245 250 255
 Trp Phe Val Asp Tyr Tyr Leu Asp Gln Met Arg Leu Ser Ser Gln Val
 260 265 270
 Glu Gly Lys Arg Leu Leu Asp Val Phe Asp Val His Trp Tyr Pro Glu
 275 280 285
 Ala Met Gly Gly Gly Ile Arg Ile Thr Asn Glu Val Gly Asn Asp Glu
 290 295 300
 Thr Lys Lys Ala Arg Met Gln Ala Pro Arg Thr Leu Trp Asp Pro Thr
 305 310 315 320
 Tyr Lys Glu Asp Ser Trp Ile Ala Gln Trp Phe Ser Glu Phe Leu Pro

| | | | | | |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------|-------------|-----|-----|
| | 325 | | 330 | | 335 |
| Ile Leu Pro Arg | Leu Lys Gln Ser Val | Asp Lys Tyr Tyr | Pro Gly Thr | | |
| | 340 | | 345 | | 350 |
| Lys Leu Ala Met Thr | Glu Tyr Ser Tyr Gly Gly | Glu Asn Asp Ile Ser | | | |
| | 355 | | 360 | | 365 |
| Gly Gly Ile Ala Met Thr | Asp Val Leu Gly Ile Leu Gly | Lys Asn Asp | | | |
| | 370 | | 375 | | 380 |
| Val Tyr Met Ala Asn Tyr Trp | Lys Leu Lys Asp Gly Val | Asn Asn Tyr | | | |
| 385 | | 390 | | 395 | 400 |
| Val Ser Ala Ala Tyr Lys Leu Tyr | Arg Asn Tyr Asp Gly Lys | Asn Ser | | | |
| | 405 | | 410 | | 415 |
| Thr Phe Gly Asp Thr Ser Val Ser | Ala Gln Thr Ser Asp Ile Val | Asn | | | |
| | 420 | | 425 | | 430 |
| Ser Ser Val His Ala Ser Val Thr | Asn Ala Ser Asp Lys Glu Leu | His | | | |
| | 435 | | 440 | | 445 |
| Leu Val Val Met Asn Lys Ser Met | Asp Ser Ala Phe Asp Ala Gln | Phe | | | |
| | 450 | | 455 | | 460 |
| Asp Leu Ser Gly Ala Lys Thr Tyr Ile | Ser Gly Lys Val Trp Gly Phe | | | | |
| 465 | | 470 | | 475 | 480 |
| Asp Lys Asn Ser Ser Gln Ile Lys Glu | Ala Ala Pro Ile Thr Gln Ile | | | | |
| | 485 | | 490 | | 495 |
| Ser Gly Asn Arg Phe Thr Tyr Thr Val | Pro Pro Leu Thr Ala Tyr His | | | | |
| | 500 | | 505 | | 510 |
| Ile Val Leu Thr Thr Gly Asn Asp Thr | Ser Pro Val | | | | |
| | 515 | | 520 | | |

<210> 13
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 热白丝菌 (Melanocarpus albomyces)
 <400> 13

| | |
|---|-----------------------------|
| Ala Asn Gly Gln Ser Thr Arg Tyr Trp | Asp Cys Cys Lys Pro Ser Cys |
| 1 | 5 10 15 |
| Gly Trp Arg Gly Lys Gly Pro Val Asn Gln | Pro Val Tyr Ser Cys Asp |
| | 20 25 30 |
| Ala Asn Phe Gln Arg Ile His Asp Phe Asp | Ala Val Ser Gly Cys Glu |
| | 35 40 45 |
| Gly Gly Pro Ala Phe Ser Cys Ala Asp His | Ser Pro Trp Ala Ile Asn |
| | 50 55 60 |
| Asp Asn Leu Ser Tyr Gly Phe Ala Ala Thr | Ala Leu Ser Gly Gln Thr |

| | | |
|---|-----|-----|
| 115 | 120 | 125 |
| Leu Ala Ser Gln Asn Ser Gln Gly Gly Val Leu Asn Gly Phe Tyr Ser | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Ala Asn Lys Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser Lys Pro Gln Gln Thr Lys | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Gly Thr Trp Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr Gly Ala Ala Gly Pro Tyr | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Cys Lys Ala Leu Gly Ser Asn Asp Lys Ser Val Cys Asp Lys Asn Lys | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Asn Ile Ala Gly Asp Trp Gly Phe Asp Pro Ala Lys Trp Ala Tyr Gln | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Tyr Asp Glu Lys Asn Asn Lys Phe Asn Tyr Val Gly Lys | | |
| 210 | 215 | 220 |