

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 23.10.1998

(32) Datum podání prioritní přihlášky: 23.10.1997 23.10.1997
23.10.1997

(31) Číslo prioritní přihlášky: 1997/956323 1997/956564
1997/956324

(33) Země priority: US US US

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 16.01.2002
(Věstník č. 1/2002)

(86) PCT číslo: PCT/US98/22482

(87) PCT číslo zveřejnění: WO99/20726

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 1479

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. ⁷:

C 11 D 3/386

C 12 N 9/54

A 61 K 7/48

A 61 K 7/28

C 11 D 3/39

(71) Přihlašovatel:

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY, Cincinnati,
OH, US;
GENENCOR INTERNATIONAL, INC., Palo Alto,
CA, US;

(72) Původce:

Ghosh Chanchal Kumar, West Chester, OH, US;
Baeck Andre Cesar, Bonheiden, BE;
Ohtani Ryohe, Kobe, JP;
Busch Alfred, Londerzeel, BE;
Showell Michael Stanford, Cincinnati, OH, US;
Schellenberger Volker, Burlingame, CA, US;
Kellis James T. Jr., Portola Valley, CA, US;
Paech Christian, Daly City, CA, US;
Nadherny Joanne, San Francisco, CA, US;
Naki Donald P., San Francisco, CA, US;
Collier Katherine D., Redwood City, CA, US;
Caldwell Robert M., San Carlos, CA, US;
Poulose Ayrookaran J., Belmont, CA, US;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Bělící prostředky obsahující mnohočetné
substituované proteázové varianty**

(57) Anotace:

Řešení se týká bělicích prostředků obsahujících proteázovou variantu. Jeden bělicí prostředek obsahuje proteázovou variantu, kde je aminokyselinový zbytek odpovídající poloze 103 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem, ve spojení se substitucí aminokyselinového zbytku v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141,

142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274, a 275 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem, kde jsou substituované aminokyselinové zbytky proteázové varianty v polohách odpovídajících polohám 103 a 76, je také substituován aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách jiných než jsou polohy odpovídající polohám 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 nebo 274 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*; bělicí činidlo a jednu nebo více pomocných čistících látek. Jiný bělicí prostředek obsahuje proteázovou variantu, kde je aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem; bělicí činidlo a jednu nebo více pomocných čistících látek. Řešení také poskytuje způsoby užití bělicích prostředků.

Bělící prostředky obsahující mnohočetně substituované proteázové varianty

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká bělicích prostředků, zejména pracích prostředků, obsahujících jeden nebo více proteázových enzymů, což jsou mnohočetně substituované proteázové varianty, a bělicí systém s jedním nebo více bělicími činidly, zejména bělicími aktivátory, a způsobu užití bělicích prostředků.

Dosavadní stav techniky

V pracích prostředcích se k odstranění skvrn z tkanin již dlouho obecně používají různé typy enzymů. Typicky se jedná o skvrny lipidového nebo proteinového původu. Ukázalo se však, že enzymy jsou proti jiným typům špíny a skvrn málo účinné.

U.S. patent 5,677,272, Gosh et al., vydaný 10. října 1997, popisuje bělicí prostředky obsahující: 1) proteázovou variantu, u níž jsou aminokyselinové zbytky v polohách odpovídajících poloze 76 ve spojení s jednou nebo více polohami 99, 101, 103, 104, 107, 123, 27, 105, 109, 126, 128, 135, 156, 166, 195, 197, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 a/nebo 274 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, substituovány jinými aminokyselinovými zbytky; 2) bělicí činidlo; 3) jednu nebo více látek bělicího prostředku kompatibilních s proteázovou variantou a bělicím činidlem.

Stále je však zapotřebí účinnějších prostředků k odstranění skvrn a/nebo vyčištění zašlé špíny než jsou obvyklé bělicí prostředky.

Předkládaný vynález ukazuje, že spojení nových proteázových enzymů, což jsou mnohočetně substituované proteázové varianty, s bělicími činidly, zejména bělicími aktivátory, vede, ve srovnání s obvyklými bělicími prostředky, k výhodnému účinnějšímu a lepšímu odstranění skvrn a/nebo vyčištění zašlé špíny.

Předmětem předkládaného vynálezu je poskytnutí bělicích prostředků, zejména pracích prostředků, výhodně lépe odstraňujících skvrny a/nebo špínu a/nebo vyčisticích zašlou špínu a/nebo čistících tkaniny a/nebo vykazujících zlepšené bělicí vlastnosti.

Následující detailní popis ozřejmí tyto a další předměty předkládaného vynálezu.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález plní výše uvedené potřeby, když ukazuje, že mnohočetně substituované proteázové varianty podle předkládaného vynálezu poskytují při použití v bělících prostředcích, ve srovnání s obvyklými bělícími prostředky obsahujícími proteázu, účinnější a lepší čistící účinky, včetně ale bez omezení na redukci a/nebo odstranění skvrn a/nebo zachování bělosti a/nebo vyčištění zašlé špíny a/nebo redukci a/nebo odstranění skvrn a/nebo povlaku.

Mnohočetně substituované proteázové varianty podle předkládaného vynálezu jsou vhodné pro použití ve vysoké a nízké granulární hustotě, v tekutých prostředcích s velkou účinností a v tekutých prostředcích k běžnému použití, tabletách, práscích, gelech, pěnách, sprejích, pastách, v prostředcích se syntetickým detergentem a dalších bělících prostředcích.

V jednom provedení předkládaného vynálezu bělící prostředek obsahuje:

- (a) proteázovou variantu, výhodně efektivní množství proteázové varianty, výhodněji 0,0001

až 10 % proteázové varianty z hmotnosti bělícího prostředku, v této proteázové variantě je aminokyselinový zbytek odpovídající poloze 103 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem, ve spojení se substitucí aminokyselinového zbytku v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 a 275 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem; když jsou v proteázové variantě substituované aminokyselinové zbytky v polohách odpovídajících polohám 103 a 76, je také substituován aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách jiných než jsou polohy odpovídající polohám 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 nebo 274 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*;

(b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z bělicího prostředku; a

(c) jednu nebo více pomocných čistících látek.

V jiném provedení předkládaný vynález poskytuje bělicí prostředek na tkaniny obsahující:

(a) efektivní množství výše popsané proteázové varianty, výhodně 0,0001 až 10 % z hmotnosti bělicího prostředku na tkaniny;

(b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z bělicího prostředku;

(c) nejméně 5 % surfaktantu z hmotnosti bělicího prostředku na tkaniny; a

(d) nejméně 5 % plnidla z hmotnosti bělicího prostředku na tkaniny.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje způsob čištění tkanin určených k čištění zahrnující kontakt tkaniny s bělicím prostředkem na tkaniny podle předkládaného vynálezu.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje bělicí prostředek na mytí nádobí obsahující:

(a) efektivní množství výše popsané proteázové varianty, výhodně 0,0001 až 10 % z hmotnosti prostředku na mytí nádobí;

(b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku; a

(c) 0,1 až 10 % surfaktantu z hmotnosti prostředku.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje způsob čištění nádobí zahrnující kontakt nádobí s bělicím prostředkem na mytí nádobí podle předkládaného vynálezu.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje prostředek osobní očisty obsahující:

- (a) efektivní množství výše popsané proteázové varianty, výhodně 0,001 až 5 % z hmotnosti prostředku osobní očištění;
- (b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku;
- (c) 0,1 až 95 % surfaktantového systému z hmotnosti prostředku osobní očištění; a
- (d) výhodně 0,05 až 50 % enzymového stabilizátoru z hmotnosti prostředku osobní očištění.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje způsob osobní očištění částí lidského těla nebo těl nižších živočichů určených k čištění zahrnující kontakt dané části těla s prostředkem osobní očištění podle předkládaného vynálezu.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje bělicí prostředek obsahující:

- (a) proteázovou variantu, výhodně efektivní množství proteázové varianty, výhodněji 0,0001 až 10 % proteázové varianty z hmotnosti bělicího prostředku, v níž je aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem;
- (b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku;
- (c) jednu nebo více pomocných čisticích látek.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje bělicí prostředek na tkaniny obsahující:

- (a) efektivní množství proteázové varianty, výhodně 0,0001 až 10 % z hmotnosti bělicího prostředku na tkaniny, v proteázové variantě je aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem;
- (b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z bělicího prostředku;
- (c) nejméně 5 % surfaktantu z hmotnosti bělicího prostředku na tkaniny; a

- (d) nejméně 5 % plnidla z hmotnosti bělicího prostředku na tkaniny.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje způsob čištění tkanin určených k čištění zahrnující kontakt tkaniny s bělicím prostředkem na tkaniny podle předkládaného vynálezu.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje bělicí prostředek na mytí nádobí obsahující:

- (a) efektivní množství proteázové varianty, výhodně 0,0001 až 10 % z hmotnosti bělicího prostředku na mytí nádobí, v proteázové variantě je aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem;
- (b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku; a
- (c) 0,1 až 10 % surfaktantu z hmotnosti prostředku na mytí nádobí.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje způsob čištění nádobí určeného k čištění zahrnující kontakt nádobí s bělicím prostředkem na mytí nádobí podle předkládaného vynálezu.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje prostředek osobní očisty obsahující:

- (a) efektivní množství proteázové varianty, výhodně 0,001 až 5 % z hmotnosti prostředku osobní očisty, v proteázové variantě je aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem;
- (b) bělicí činidlo, kterým je buď organická peroxykyselina, nebo je spojením bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné poskytnout peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku peroxykyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku;
- (c) 0,1 až 95 % surfaktantového systému z hmotnosti prostředku osobní očisty; a
- (d) výhodně 0,05 až 50 % enzymového stabilizátoru z hmotnosti prostředku osobní očisty.

V ještě jiném provedení předkládaný vynález poskytuje způsob osobní očisty částí lidského těla nebo těl nižších živočichů určených k čištění zahrnující kontakt dané části s prostředkem osobní očisty podle předkládaného vynálezu.

Předmětem předkládaného vynálezu je poskytnout bělicí prostředky obsahující proteázovou variantu, schopné lepšího a účinnějšího čištění tkanin, nádobí, prostírání, kuchyňského a kuchařského nádobí a náčiní a dalších pevných povrchů. Dalším předmětem předkládaného vynálezu je poskytnout způsoby čištění tkanin, nádobí, prostírání, kuchyňského a kuchařského nádobí a náčiní a dalších pevných povrchů pomocí bělicích prostředků podle předkládaného vynálezu, které obsahují proteázovou variantu.

Tyto a další předměty, rysy a výhody předkládaného vynálezu se ozřejmí v následujícím detailním popisu, příkladech a připojených nárocích.

Pokud není uvedeno jinak, jsou všechny procentuální údaje, poměry a proporce na bázi hmotnosti. Všechny citované dokumenty jsou uvedeny v odkazech.

Stručný popis obrázků.

Obr. 1A-1C zobrazují DNA a aminokyselinové sekvence subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* a parciální restrikční mapu tohoto genu.

Obr. 2 zobrazuje konzervované aminokyselinové zbytky v subtilisinech *Bacillus amyloliquefaciens* (BPN)' a *Bacillus lentus* (divoký typ).

Obr. 3A a 3B zobrazují aminokyselinové sekvence čtyř subtilisinů. Horní řada představuje aminokyselinovou sekvenci subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* (také označovaného jako subtilisin BPN'). Druhá řada představuje aminokyselinovou sekvenci subtilisinu *Bacillus subtilis*. Třetí řada představuje aminokyselinovou sekvenci subtilisinu *B. licheniformis*. Čtvrtá řada představuje aminokyselinovou sekvenci subtilisinu *Bacillus lentus* (v PCT WO89/06276 také označovaného jako subtilisin 309). Symbol * označuje absenci specifických aminokyselinových zbytků ve srovnání se subtilisinem BPN'.

Detailní popis vynálezu.

Bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu poskytují zlepšené a zvýšené čištění tkanin, nádobí, kuchyňského nádobí, prostírání a dalších pevných povrchů zde popsaných odstraněním a/nebo redukcí špíny a/nebo skvrn z tkanin a dalších pevných povrchů a odstraněním a/nebo redukcí skvrn a/nebo povlaku z nádobí a dalších pevných povrchů.

Bělicí systémy ve spojení s proteázovými enzymy podle předkládaného vynálezu jsou obzvláště účinné a efektivní při odstraňování většiny typů skvrn z tkanin, včetně proteinových a lipidových skvrn, zašlých skvrn a velkých nánosů skvrn, zejména nukleofilních a tělesných skvrn.

Následuje detailní popis zde používaných proteázových enzymů, bělicích činidel (včetně peroxykyselin a bělicích systémů) a pomocných čistících látek včetně výhodných koncentrací.

I. Proteázy. Proteázy jsou karbonylhydrolázy, které obecně působí štěpení peptidových vazeb proteinů nebo peptidů. „Proteáza“ se zde používá pro označení přirozeně se vyskytujících proteáz nebo rekombinantních proteáz. Přirozeně se vyskytující proteázy zahrnují α -aminoacylpeptidhydrolázy, hydrolázy peptidylaminokyselin, acylaminohydrolázy, serin-karboxypeptidázy, metalokarboxypeptidázy, thiolproteinázy, karboxylproteinázy a metaloproteinázy. Včetně serin-, metal-, thiol- a kyselinové proteáz a endo- a exo-proteáz.

Předkládaný vynález obsahuje proteázové enzymy, což jsou nepřirozeně se vyskytující karbonylhydrolázové varianty (proteázové varianty) mající rozdílnou proteolytickou aktivitu, stabilitu, substrátovou specifitu, pH profil a/nebo charakteristiku chování ve srovnání s prekursorem karbonylhydrolázy, od níž je aminokyselinová sekvence varianty odvozena. Takové proteázové varianty mají aminokyselinové sekvence v přírodě se nevyskytující, které vznikly nahrazením množství aminokyselinových zbytků prekursorové proteázy jinými aminokyselinami. Prekursorová proteáza je přirozeně se vyskytující proteáza nebo rekombinantní proteáza. Jak se uvádí dříve, proteázové varianty jsou navrženy se specifitou podobnou tripsinu a výhodně také stabilní vůči bělidlu.

U zde použitých proteázových variant je ve vyznačených polohách aminokyselinových zbytků substitována kterékoliv z 19 přirozeně se vyskytujících L-aminokyselin. Tato substituce se provádí u jakéhokoliv prekursoru subtilisinu (prokaryotickém, eukaryotickém, savčím atd.). V předkládané přihlášce se aminokyseliny značí běžnými jedno- a třípísmenkovými kódy. Tyto kódy uvádí Dale, M.W. (1989), Molecular Genetics of Bacteria, John Wiley & Sons, Ltd., Appendix B.

Zde použité proteázové varianty se výhodně odvozují od subtilisinu *Bacillus*. Výhodněji se proteázové varianty odvozují od subtilisinu *Bacillus lentus* a/nebo subtilisinu 309.

Karbonylhydrolázy. Karbonylhydrolázy jsou proteázové enzymy, které hydrolyzují sloučeniny obsahující $O=C-X$ vazby, kde X je kyslík nebo dusík. Zahrnují přirozeně se vyskytující karbonylhydrolázy a rekombinantní karbonylhydrolázy. Přirozeně se vyskytující karbonylhydrolázy zahrnují hlavně hydrolázy, např. peptidhydrolázy jako jsou subtilisiny nebo

metalo-proteázy. Peptidhydrolázy zahrnují α -aminoacylpeptidhydrolázy, hydrolázy peptidylaminokyselin, acylaminohydrolázy, serinkarboxypeptidázy, metalokarboxypeptidázy, thiolproteinázy, karboxylproteinázy a metaloproteinázy. Zahrnuty jsou serin-, metalo-, thiol- a kyselinové proteázy, stejně jako endo- a exoproteázy.

Subtilisiny. Subtilisiny jsou bakteriální nebo fungální proteázy, které obecně působí štěpení peptidových vazeb u proteinů nebo peptidů. „Subtilisin“ se zde používá pro označení přirozeně se vyskytujícího subtilisinu nebo rekombinantního subtilisinu. O řadě přirozeně se vyskytujících subtilisinů se ví, že jsou produkovány a často sekretovány různými mikrobiálními druhy. Aminokyselinové sekvence členů této řady nejsou zcela homologní. Subtilisiny této řady však vykazují stejnou nebo podobnou proteolytickou aktivitu. Tato třída serinproteáz sdílí společnou aminokyselinovou sekvenci definující katalytickou třídu, což ji odlišuje od třídy serinproteáz příbuzných chymotripsinu. Subtilisiny a serinproteázy příbuzné chymotripsinu mají katalytickou třídu obsahující aspartát, histidin a serin. U proteáz příbuzných subtilisinu je relativní pořadí těchto aminokyselin, čteno od amino- ke karboxyterminu, aspartát-histidin-serin. U proteáz příbuzných chymotripsinu je však relativní pořadí histidin-aspartát-serin. Zde uváděný subtilisin má katalytickou třídu proteáz příbuzných subtilisinu, odpovídá tedy serinproteáze. Příklady zahrnují, ale nejsou omezeny na, subtilisiny podle Obr. 3. Obecně i pro účely předkládaného vynálezu číslování aminokyselin v proteázách odpovídá číslům uvedeným pro sekvenci maturovaného subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* podle Obr. 1.

Proteázové varianty. „Proteázová varianta“ má aminokyselinovou sekvenci odvozenou od aminokyselinové sekvence „prekursorové proteázy“. Prekursorové proteázy zahrnují přirozeně se vyskytující proteázy a rekombinantní proteázy. Aminokyselinová sekvence proteázové varianty se „odvozuje“ od aminokyselinové sekvence prekursorové proteázy substitucí, delecí nebo insercí jedné nebo více aminokyselin z aminokyselinové sekvence prekursoru. Spíše než manipulace s enzymem prekursorové proteázy *per se* se modifikace provádí na „sekvenci prekursorové DNA“, která kóduje aminokyselinovou sekvenci prekursorové proteázy. Vhodné metody pro manipulaci se sekvencí prekursorové DNA a metody odborníkům v daném oboru známé se zde popisují (viz např. EP 0 328 299, WO 89/06279 a a US. Patenty a přihlášky již zde zmíněné).

Proteázové varianty, což jsou proteázové enzymy použité v bělících prostředcích podle předkládaného vynálezu, ve výhodném provedení zahrnují proteázové varianty, v nichž je aminokyselinový zbytek odpovídající poloze 103 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem, ve spojení se substitucí aminokyselinového zbytku v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 a 275 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem; když jsou substituované aminokyselinové zbytky proteázové varianty v polohách odpovídajících polohám 103 a 76, je také substituován aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách jiných než jsou polohy odpovídající polohám 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 nebo 274 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, a jednu nebo více pomocných čistících látek.

Jakákoliv kombinace substitucí výše uvedených aminokyselin je použitelná, výhodné enzymy proteázových variant podle předkládaného vynálezu obsahují substituci, delecii nebo inserci aminokyselinových zbytků v následujících kombinacích:

- (1) proteázová varianta obsahující substituci aminokyselinového zbytku v poloze 103 a v jedné nebo více následujících polohách 236 a 245;
- (2) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 103 a 236 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 230, 232, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
- (3) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 103 a 245 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 104, 109, 130, 131, 159, 170, 183, 185, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 230, 232, 248, 252, 257, 260, 261, 270 a 275; a

21.06.00

76	103	104	183									
19	76	103	104									
13	76	103	104									
19	76	103	104									
76	103	104	184									
76	103	104	252									
76	103	104	259									
76	103	104	251									
76	86	103	104									
72	76	103	104	185								
76	103	104	237	274								
76	103	104	160									
76	103	104	228									
55	76	103	104	240								
76	103	104	254									
76	103	104	204									
76	103	104	204									
43	76	103	104									
76	103	104	159									
10	76	103	104	177								
58	76	103	104									
76	103	104	270									
76	103	104	185									
27	76	103	104									
76	103	104	262									
76	78	103	104									
24	76	103	104									
76	103	104	166	236	251							
17	76	103	104	237								
76	103	104	130									
76	103	104	109									
76	99	103	104	204								

76	103	104	181									
12	76	103	104									
76	103	104	212	271								
76	103	104	252	261								
76	103	104	242									
76	103	104	271									
12	76	103	104	242								
43	76	103	104	116	183							
76	103	104	258									
76	103	104	271									
61	76	103	104									
38	76	103	104	182	263							
76	103	104	182	272								
76	103	104	109	246								
76	87	103	104	206	249	265						
76	103	104	137	238	271							
103	104	228										
76	103	104	182	198								
21	76	103	104	182								
76	103	104	119	137								
76	103	104	137	248								
13	76	103	104	206								
76	103	104	206									
76	103	104	212	258								
58	76	103	104	271								
76	103	104	206	261								
4	76	103	104	206								
76	77	103	104	206								
76	103	104	158									
76	103	104	206									
4	76	103	104	159	217	251						
4	76	103	104	159	217	252						

76	77	103	104	133	185	251						
76	103	104	159	206	244							
4	76	103	104	188								
4	76	103	104	158								
76	77	103	104	185								
76	103	104	206	251								
48	76	103	104	111	159							
68	76	103	104	159	236							
42	76	103	104	159								
12	62	76	103	104	159							
42	76	103	104	159								
76	103	104	146	159								
76	103	104	159	238								
76	103	104	159	224								
76	103	104	212	268	271							
76	89	103	104									
76	87	103	104	212	271							
76	103	104	212	245	271							
76	103	104	134	141	212	271						
76	103	104	212	236	243	271						
76	103	104	109	245								
76	103	104	109	210								
20	62	76	103	104								
68	76	103	104	236								
68	76	103	104	159	236	271						
68	76	103	104	159	236	245						
68	76	103	104	159	217	236	271					
17	68	76	103	104								
68	76	103	104									
68	76	103	104	159	236							
68	75	76	103	104	159	236						
68	76	76	103	114	121	159	236	245				

12	68	76	103	104	159	236						
68	76	103	104	159	209	236	253					
68	76	103	104	117	159	184	236					
68	76	103	104	159	236	243						
68	76	103	104	159	236	245						
68	76	103	104	142	159							
68	76	103	104	123	159	236	249					
68	76	103	104	159	236	249						
76	103	104	222	245								
12	76	103	104	222	249							
76	103	104	173	222								
76	103	104	222	263								
21	76	103	104	222	237	263						
76	103	104	109	222								
76	103	104	109	222	271							
61	76	103	104	222								
76	103	104	137	222								
76	103	104	109	222	248							
76	103	104	222	249								
68	76	103	104	159	236	245	261					
68	76	103	104	141	159	236	245	255				
68	76	103	104	159	236	245	247					
68	76	103	104	159	174	204	236	245				
68	76	103	104	159	204	236	245					
68	76	103	104	133	159	218	236	245				
68	76	103	104	159	232	236	245					
68	76	103	104	159	194	203	236	245				
12	76	103	104	222	245							
76	103	104	232	245								
24	68	76	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	232	236	245	252					
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260			

12	76	103	104	222	244	245						
12	76	103	222	210	245							
12	76	103	104	130	222	245						
22	68	76	103	104								
68	76	103	104	184								
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	232	236	245						
68	103	104	140	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245					
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
68	87	103	104	159	232	236	245	252	275			
12	76	103	104	130	222	245	248	262				
12	76	103	104	130	215	222	245					
12	76	103	104	130	222	227	245	262				
12	76	103	104	130	222	245	261					
76	103	104	130	222	245							
12	76	103	104	130	218	222	245	262	269			
12	57	76	103	104	130	222	245	251				
12	76	103	104	130	170	185	222	243	245			
12	76	103	104	130	222	245	268					
12	76	103	104	130	222	210	245					
68	103	104	159	232	236	245	257					
68	103	104	116	159	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
10	68	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	203	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	237	245					
68	76	79	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	183	232	236	245					
68	103	104	159	174	206	232	236	245				
68	103	104	159	188	232	236	245					

68	103	104	159	230	232	236	245					
68	98	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	215	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
68	76	103	104	159	232	236	245					
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
68	76	103	104	159	232	236	245	257				
76	103	104	232	236	245	257						
68	103	104	159	232	236	245	257	275				
76	103	104	257	275								
68	103	104	159	224	232	236	245	257				
76	103	104	159	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	209	232	236	245				
68	76	103	104	159	211	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245			
68	76	103	104	159	215	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	232	236	245				
20	68	76	103	104	159	232	236	245	259			
68	87	76	103	104	159	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	232	236	245	261				
76	103	104	232	236	242	245						
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245			
76	103	104	232	236	245							
76	103	104	159	192	232	236	245					
76	103	104	147	159	232	236	245	248	251			
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272			
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245			
68	76	103	104	159	232	236	245	256				
68	76	103	104	159	206	232	236	245				
27	68	76	103	104	159	232	236	245				
68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245		

61	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
43	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	99	159	184	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252			
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	103	104	159	185	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	185	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	213	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252			
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	173	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	251	252			
68	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
55	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	255			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	257			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	258			
8	68	103	104	159	232	236	245	248	252	269		
68	103	104	116	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			

68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	76	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	232	236	245	248	252					
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
18	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	76	101	103	104	159	213	218	232	236	245	260	
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252			
33	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260	
61	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
103	104	159	205	210	232	236	245					
61	68	103	104	130	159	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	133	137	159	232	236	245	248	252	
61	103	104	133	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252			
61	68	103	104	159	160	232	236	245	248	252		
3	61	68	76	103	104	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	159	167	232	236	245	248	252		
97	103	104	159	232	236	245	248	252				
98	103	104	159	232	236	245	248	252				
99	103	104	159	232	236	245	248	252				
101	103	104	159	232	236	245	248	252				
102	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	106	159	232	236	245	248	252				
103	104	109	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	245	248	252	261				
62	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	166	232	236	245	248	252				

103	104	159	217	232	236	245	248	252				
20	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	159	206	217	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
103	104	130	159	232	236	245	248	252				
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
27	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	76	103	104	159	213	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	271		
68	76	103	104	159	209	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	205	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	232	236	245	260			
68	103	104	159	213	232	236	245	260				
76	103	104	159	213	232	236	245	260				
68	103	104	159	209	232	236	245					
68	103	104	159	210	232	236	245					
68	103	104	159	230	232	236	245					
68	103	104	159	126	232	236	245					
68	103	104	159	205	232	236	245					
68	103	104	159	210	232	236	245					
103	104	159	230	236	245							
68	103	104	159	232	236	245	260					
103	104	159	232	236	245							
68	103	104	159	174	232	236	245	257				
68	103	104	159	194	232	236	245	257				
68	103	104	159	209	232	236	245	257				
103	104	159	232	236	245	257						
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	261		
68	103	104	159	232	236	245	257	261				

103	104	159	213	232	236	245	260					
103	104	159	210	232	236	245	248	252				
103	104	159	209	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
12	103	104	159	209	213	232	236	245	260			
103	104	209	232	236	245	257						
103	104	159	205	210	213	232	236	245	260			
103	104	159	205	209	232	236	245	260				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245			
103	104	159	205	209	210	232	236	245	257			
103	104	159	205	209	232	236	245	257				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245	260		
103	104	159	205	209	210	232	236	245				
103	104	159	209	210	232	236	245					
103	104	159	205	210	232	236	245					
68	103	104	128	159	232	236	245					
48	103	104	159	230	236	245						
48	68	103	104	159	209	232	236	245				
48	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
48	68	103	104	159	232	236	245	257	261			
102	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
12	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
101	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
102	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	244	245	248	252				
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252	256		
12	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	185	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	206	232	236	245	248	252			

101	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
98	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
98	102	103	104	159	212	232	236	248	252			
62	103	104	109	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252		
62	101	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252	
103	104	159	232	245	248	252						
103	104	159	230	245								
62	103	104	130	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	130	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	128	159	232	236	245	248	252			
62	101	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
101	103	104	131	159	232	236	245	248	252			
98	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
99	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
76	103	104	167	170	194							
101	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	205	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	230	236	245						
101	103	104	159	194	232	236	245	248	252			
76	101	103	104	159	194	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	230	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	185	206	213	232	236	245	248	252	271

Tabulka II

[illegible]

N76D	S103A	V104I	A228V										
P55S	N76D	S103A	V104I	S240T									
N76D	S103A	V104I	A254T										
N76D	S103A	I104N	N204T										
N76D	S103A	V104I	N204D										
N43S	N76D	S103A	V104I										
N76D	S103A	V104I	G159D										
R10H	N76D	S103A	V104I	V177A									
T58S	N76D	S103A	V104I										
N76D	S103A	V104I	A270V										
N76D	S103A	V104I	N185D										
K27N	N76D	S103A	V104I										
N76D	S103A	V104I	L262M										
N76D	S78P	S103A	V104I										
S24P	N76D	S103A	V104I										
N76D	S103A	V104I	S166G	Q236R	K251R								
H17L	N76D	S103A	V104I	K237E									
N76D	S103A	V104I	S130L										
N76D	S103A	V104I	Q109R										
N76D	S99R	S103A	V104I	N204T									
N76D	S103A	V104I	D181N										
Q12R	N76D	S103A	V104I										
N76D	S103A	V104I	S212P	E271V									
N76D	S103A	V104I	N252K	N261Y									
N76D	S103A	V104I	S242T										
N76D	S103A	V104I	E271Q										
Q12R	N76D	S103A	V104I	S242T									
N43S	N76D	S103A	V104I	N116K	N183I								
N76D	S103A	V104I	G258R										
N76D	S103A	V104I	E271G										
G61R	N76D	S103A	V104I										
T38S	N76D	S103A	V104I	Q182R	Y263H								
N76D	S103A	V104I	Q182R	A272S									
N76D	S103A	V104I	Q109R	I246V									
N76D	S87G	S103A	V104I	Q206R	H249Q	S265G							
N76D	S103A	V104I	Q137R	N238Y	E271V								

S103A	V104I	A228T										
N76D	S103A	V104I	Q182R	I198V								
L21M	N76D	S103A	V104I	Q182R								
N76D	S103A	V104I	M119I	Q137R								
N76D	S103A	V104I	Q137R	N248S								
A13T	N76D	S103A	V104I	Q206R								
N76D	S103A	V104I	Q206R									
N76D	S103A	V104I	S212P	G258R								
T58S	N76D	S103A	V104I	E271G								
N76D	S103A	V104I	Q206E	N261D								
V4E	N76D	S103A	V104I	Q206E								
N76D	N77D	S103A	V104I	Q206E								
N76D	S103A	V104I	A158E									
N76D	S103A	V104I	Q206E									
V4E	N76D	S103A	V104I	G159D	L217E	K251Q						
V4E	N76D	S103A	V104I	G159D	L217E	N252D						
N76D	N77D	S103A	V104I	A133T	N185D	K251T						
N76D	S103A	V104I	G159D	Q206E	V244A							
V4E	N76D	S103A	V104I	S188E								
V4E	N76D	S103A	V104I	A158E								
N76D	N77D	S103A	V104I	N185D								
N76D	S103A	V104I	Q206E	K251T								
A48T	N76D	S103A	V104I	L111M	G159D							
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H							
L42V	N76D	S103A	V104I	G159D								
Q12H	N62H	N76D	S103A	V104I	G159D							
L42I	N76D	S103A	V104I	G159D								
N76D	S103A	V104I	G146S	G159D								
N76D	S103A	V104I	G159D	N238S								
N76D	S103A	V104I	G159D	T224A								
N76D	S103A	V104I	S212P	V268F	E271V							
N76D	E89A	S103A	V104I									
N76D	S87R	S103A	V104I	S212P	E271V							
N76D	S103A	V104I	S212P	Q245L	E271V							
N76D	S103A	V104I	T134S	S141N	S212P	E271V						
N76D	S103A	V104I	S212P	Q236L	N243S	E271V						

N76D	S103A	V104I	Q109R	Q245R								
N76D	S103A	V104I	Q109R	P210L								
G20V	N62S	N76D	S103A	V104I								
V68A	N76D	S103A	V104I	Q236H								
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	E271V						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245R						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	L217I	Q236H	E271V					
H17Q	V68A	N76D	S103A	V104I								
V68A	N76D	S103A	V104I									
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236R							
V68A	L75R	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H						
V68A	N76D	N76D	S103A	A114V	V121I	G159D	Q236H	Q245R				
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209S	Q236H	T253K					
V68A	N76D	S103A	V104I	N117K	G159D	N184S	Q236H					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	N243I						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245L						
V68A	N76D	S103A	V104I	A142V	G159D							
V68A	N76D	S103A	V104I	N123S	G159D	Q236H	H249Y					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	H249Q						
N76D	S103A	V104I	M222S	Q245R								
Q12R	N76D	S103A	V104I	M222S	H249R							
N76D	S103A	V104I	N173R	M222S								
N76D	S103A	V104I	M222S	Y263F								
L21M	N76D	S103A	V104I	M222S	K237R	Y263F						
N76D	S103A	V104I	Q109R	M222S								
N76D	S103A	V104I	Q109R	M222S	E271D							
G61R	N76D	S103A	V104I	M222S								
N76D	S103A	V104I	Q137R	M222S								
N76D	S103A	V104I	Q109R	M222S	N248S							
N76D	S103A	V104I	M222S	H249R								
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245R	N261D					
V68A	N76D	S103A	V104I	S141N	G159D	Q236H	Q245R	T255S				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245R	R247H					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A174V	N204D	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N204D	Q236H	Q245R					

V68A	N76D	S103A	V104I	A133V	G159D	N218D	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A194I	V203A	Q236H	Q245R				
Q12R	N76D	S103A	V104I	M222S	Q245R							
N76D	S103A	V104I	A232V	Q245R								
S24T	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
Q12R	N76D	S103A	I104T	M222S	V244I	Q245R						
Q12R	N76D	S103A	M222S	P210T	Q245R							
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R						
T22K	V68A	N76D	S103A	V104I								
V68A	N76D	S103A	V104I	N184D								
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S87G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K	R275S			
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	N248S	L262M				
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	A215V	M222S	Q245R					
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	V227A	Q245R	L262S				
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	A215T	M222S	Q245R					
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	N261D					
N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R							
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	N218D	M222S	Q245R	L262S	N269D			
Q12R	S57P	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	K251Q				
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	R170S	N185D	M222S	N243D	Q245R			
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	V268A					
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	P210S	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	S103A	V104I	N116D	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D					
R10C	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	V203E	A232V	Q236H	Q245R					

V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	K237E	Q245R					
V68A	N76D	I79N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	N183D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	Q206L	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	S188C	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A230T	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	A98T	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A215T	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	R275H				
N76D	S103A	V104I	L257V	R275H								
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211R	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211V	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y214L	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
G20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G			
V68A	S87R	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261G				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W				
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	S242P	Q245R						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R							
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R					
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R				

V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R				
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	N116T	G159D	R170S	N185S	A232V	Q236H	Q245R		
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	S99N	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212A	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	A103V	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G20A	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N173D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	K251V	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			

V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L				
P55S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256E			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	L257R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	G258D			
I8V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N269D		
V68A	S103A	V104I	N116S	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260F		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
S103A	V104I	G159D	A232S	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236R	Q245R	N248D	N252K				
N18S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245V	N248D	N252K				
V68A	N76D	S101T	S103A	V104I	G159D	T213R	N218S	A232V	Q236H	Q245R	T260A	
V68A	S103A	V104I	G159D	A228V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
T33S	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	
G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
G61E	V68A	S103A	V104I	S130A	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	A133S	Q137R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
G61E	S103A	V104I	A133V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248G	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S160V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S3L	G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S167F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G97E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
A98D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				

S99E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	S106E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	Q109E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R				
S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	S166D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G20R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	G159D	Q206R	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
K27N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	E271G		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	V205I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	L126F	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R					
S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R							
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260A					

S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R							
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	A194S	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	N261W		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W				
S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A					
S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
Q12R	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
S103A	V104I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	L257V			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R				
S103A	V104I	G159D	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
A48V	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R						
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R				
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W			
G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
Q12R	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G102A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244T	Q245R	N248D	N252K				

S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244A	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		
Q12R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Q206E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	T213Q	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	Q109R	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S101G	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
S103A	V104I	G159D	A232V	Q245R	N248D	N252K						
S103A	V104I	G159D	A230V	Q245R								
N62D	S103A	V104I	S130G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S101G	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	S128G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	S128L	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260A			
S101G	S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98V	S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S99G	S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R						
S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N76D	S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	G159D	N185D	Q206E	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	E271Q

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny sady substitucí uvedené v Tabulce I s výjimkou následující sady substitucí uvedené v Tabulce III:

Tabulka III

76	103	104	259							
76	86	103	104							
76	103	104	130							
76	99	103	104	204						
76	103	104	242							
76	103	104	104	182	198					
21	76	103	104	182						
76	103	104	119	137						
76	103	104	173	222						
61	76	103	104	222						
68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny sady substitucí uvedené v Tabulce IV:

Tabulka IV

76	103	104	222	245						
76	103	104	222	249						
68	103	104	159	232	236	245	252			
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	
22	68	76	103	104						
68	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	140	159	232	236	245	252		
43	68	103	104	159	232	236	245	252		
43	68	103	104	159	232	236	245			
12	76	103	104	130	222	245	261			
76	103	104	130	222	245					

68	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	210	232	236	245			
68	103	104	159	224	232	236	245	257			
76	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	211	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245		
68	76	103	104	159	215	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	232	236	245			
20	68	76	103	104	159	232	236	245	259		
68	76	87	103	104	159	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	232	236	245	261			
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245		
76	103	104	159	192	232	236	245				
76	103	104	147	159	232	236	245	248	251		
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272		
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245		
68	76	103	104	159	232	236	245	256			
68	76	103	104	159	206	232	236	245			
27	68	76	103	104	159	232	236	245			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
68	103	104	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		

68	103	104	159	232	236	245	248	252	255		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252		

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny sady substitucí uvedené v Tabulce V

Tabulka V

V68A	S103A	V104I	G159D	A228V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		

Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	N261D				
N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R						
N76D	S103A	V104I	M222S	H249R							
N76D	S103A	V104I	M222S	Q245R							
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R				
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R		
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R			
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211V	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y214L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
G20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G		
V68A	N76D	S87R	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V		
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
T22K	V68A	N76D	S103A	V104I							
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252S				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				

Velmi výhodné proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 12/76/103/104/130/170/185/222/243/245;
 12/76/103/104/130/222/245/261; 12/76/103/104/130/222/245;
 12/76/103/104/222/245;
 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
 68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
 68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
 68/76/103/104/159/236; 68/76/103/104/159/236/245;
 68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
 68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
 68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
 68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
 68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/103/104/159/236;
 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260; 68/103/104/159/236/245;
 68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/76/103/104/159/236/245;
 68/103/104/232/236/245/257/275; 68/103/104/159/213/232/236/245;
 76/103/222/245; 76/103/104/222/245;
 76/103/104/159/232/236/245;
 76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/159;
 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252; 97/103/104/159/232/236/245/248/252;
 98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
 101/103/104/159/232/236/245/248/252; 102/103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/232/236/245; 103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
 103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/230/236/245; 103/104/159/236/245;
 103/104/159/248/252/270; 103/104/131/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/205/209/232/236/245; and 103/104/159/232/236/245/257.

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny:

12R/76D/103A/104T/130T/222S/245R;
12R/76D/103A/104I/222S/245R;
12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
12R/76D/103A/104T/130G/222S/245R/261D;
12R/76D/103A/104T/130G/170S/185D/222S/243D/245R;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/236H;
68A/103A/104I/159D/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/236H;
68A/76D/103A/104I/159D/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;

68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
76D/103A/222S/245R;
76D/103A/104I/222S/245R;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/159D;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/230V/236H/245R;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/236H/245R;
103A/104I/159D/248D/252K/270V;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; a
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny:

12/76/103/104/130/222/245/261;
62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245;
68/103/104/159/230/232/236/245;
68/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/213/232/236/245;
98/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/232/236/245/248/252;
102/103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/230/236/245;
103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252;
103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/131/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/213/232/236/245/248/252; a
103/104/159/232/236/245.

Nejvýhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny:

12R/76D/103A/104T/130T/222S/245R/261D;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;

68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/230V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K; a
103A/104I/159D/232V/236H/245R.

Proteázové varianty, což jsou proteázové enzymy použité v bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu, v jiném výhodném provedení zahrnují proteázové varianty, v nichž je aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituován jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem.

Jakákoliv kombinace substitucí výše uvedených aminokyselin je použitelná, výhodné enzymy proteázových variant podle předkládaného vynálezu obsahují substituci, delecii nebo inserci aminokyselinových zbytků v následujících kombinacích:

- (1) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v poloze 62 a v jedné nebo více následujících polohách 103, 104, 109, 159, 213, 232, 236, 245, 248 a 252;
- (2) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v poloze 212 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 98, 102, 103, 104, 159, 232, 236, 245, 248 a 252;
- (3) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v poloze 230 a v jedné nebo více následujících polohách 68, 103, 104, 159, 232, 236 a 245;
- (4) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v poloze 232 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
- (5) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v poloze 232 a v jedné nebo více následujících polohách 103, 104, 236 a 245;
- (6) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 232 a 103 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
- (7) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 232 a 104 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
- (8) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 232 a 236 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102,

103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;

(9) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 232 a 245 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;

(10) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 232, 103, 104, 236 a 245 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;

(11) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v poloze 252 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;

(12) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v poloze 252 a v jedné nebo více následujících polohách 103, 104, 236 a 245;

(13) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 252 a 103 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248, a 270;

(14) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 252 a 104 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248, a 270;

(15) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 252 a 236 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248, a 270;

(16) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 252 a 245 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248, a 270;

(17) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků v polohách 252, 103, 104, 236 a 245 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248, a 270; a

(18) proteázová varianta obsahující substituce aminokyselinových zbytků poloze 257 a v jedné nebo více následujících polohách 68, 103, 104, 205, 209, 210, 232, 236, 245 a 275.

Výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou z následující skupiny (viz Tabulka VI, jedna řada představuje jednu sadu substitucí):

Tabulka VI

76	103	104	212	271								
76	103	104	252	261								
76	103	104	212	258								
4	76	103	104	159	217	252						
12	62	76	103	104	159							
76	103	104	212	268	271							
76	87	103	104	212	271							
76	103	104	212	245	271							
76	103	104	134	141	212	271						
76	103	104	212	236	243	271						
20	62	76	103	104								
68	76	103	104	159	232	236	245					
76	103	104	232	245								
24	68	76	103	104	159	232	236	245				

68	103	104	159	232	236	245	252					
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	232	236	245						
68	103	104	140	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245					
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
68	87	103	104	159	232	236	245	252	275			
68	103	104	159	232	236	245	257					
68	103	104	116	159	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
10	68	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	203	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	237	245					
68	76	79	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	183	232	236	245					
68	103	104	159	174	206	232	236	245				
68	103	104	159	188	232	236	245					
68	103	104	159	230	232	236	245					
68	98	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	215	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
68	76	103	104	159	232	236	245					
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
68	76	103	104	159	232	236	245	257				
76	103	104	232	236	245	257						
68	103	104	159	232	236	245	257	275				
76	103	104	257	275								
68	103	104	159	224	232	236	245	257				
76	103	104	159	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	209	232	236	245				
68	76	103	104	159	211	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245			
68	76	103	104	159	215	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	232	236	245				

20	68	76	103	104	159	232	236	245	259			
68	87	76	103	104	159	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	232	236	245	261				
76	103	104	232	236	242	245						
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245			
76	103	104	232	236	245							
76	103	104	159	192	232	236	245					
76	103	104	147	159	232	236	245	248	251			
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272			
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245			
68	76	103	104	159	232	236	245	256				
68	76	103	104	159	206	232	236	245				
27	68	76	103	104	159	232	236	245				
68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245		
61	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
43	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	99	159	184	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252			
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	103	104	159	185	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	185	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	213	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252			
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	173	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	251	252			

68	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
55	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	255			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	257			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	258			
8	68	103	104	159	232	236	245	248	252	269		
68	103	104	116	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	76	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	232	236	245	248	252					
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
18	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	76	101	103	104	159	213	218	232	236	245	260	
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252			
33	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260	
61	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
103	104	159	205	210	232	236	245					
61	68	103	104	130	159	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	133	137	159	232	236	245	248	252	
61	103	104	133	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252			
61	68	103	104	159	160	232	236	245	248	252		
3	61	68	76	103	104	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	159	167	232	236	245	248	252		
97	103	104	159	232	236	245	248	252				
98	103	104	159	232	236	245	248	252				
99	103	104	159	232	236	245	248	252				
101	103	104	159	232	236	245	248	252				

102	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	106	159	232	236	245	248	252				
103	104	109	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	245	248	252	261				
62	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	166	232	236	245	248	252				
103	104	159	217	232	236	245	248	252				
20	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	159	206	217	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
103	104	130	159	232	236	245	248	252				
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
27	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	76	103	104	159	213	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	271		
68	76	103	104	159	209	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	205	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	232	236	245	260			
68	103	104	159	213	232	236	245	260				
76	103	104	159	213	232	236	245	260				
68	103	104	159	209	232	236	245					
68	103	104	159	210	232	236	245					
68	103	104	159	230	232	236	245					
68	103	104	159	126	232	236	245					
68	103	104	159	205	232	236	245					
68	103	104	159	210	232	236	245					
103	104	159	230	236	245							
68	103	104	159	232	236	245	260					
103	104	159	232	236	245							
68	103	104	159	174	232	236	245	257				
68	103	104	159	194	232	236	245	257				
68	103	104	159	209	232	236	245	257				

103	104	159	232	236	245	257						
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	261		
68	103	104	159	232	236	245	257	261				
103	104	159	213	232	236	245	260					
103	104	159	210	232	236	245	248	252				
103	104	159	209	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
12	103	104	159	209	213	232	236	245	260			
103	104	209	232	236	245	257						
103	104	159	205	210	213	232	236	245	260			
103	104	159	205	209	232	236	245	260				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245			
103	104	159	205	209	210	232	236	245	257			
103	104	159	205	209	232	236	245	257				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245	260		
103	104	159	205	209	210	232	236	245				
103	104	159	209	210	232	236	245					
103	104	159	205	210	232	236	245					
68	103	104	128	159	232	236	245					
48	103	104	159	230	236	245						
48	68	103	104	159	209	232	236	245				
48	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
48	68	103	104	159	232	236	245	257	261			
102	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
12	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
101	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
102	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	244	245	248	252				
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252	256		
12	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	185	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	213	232	236	245	248	252			

98	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
98	102	103	104	159	212	232	236	248	252			
62	103	104	109	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252		
62	101	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252	
103	104	159	232	245	248	252						
103	104	159	230	245								
62	103	104	130	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	130	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	128	159	232	236	245	248	252			
62	101	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
101	103	104	131	159	232	236	245	248	252			
98	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
99	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	205	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	230	236	245						
101	103	104	159	194	232	236	245	248	252			
76	101	103	104	159	194	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	230	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	185	206	213	232	236	245	248	252	271

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou z následující skupiny (viz Tabulka VII, jedna řada představuje jednu sadu substitucí):

Tabulka VII

N76D	S103A	V104I	S212P	E271V								
N76D	S103A	V104I	N252K	N261Y								

N76D	S103A	V104I	S212P	G258R								
V4E	N76D	S103A	V104I	G159D	L217E	N252D						
Q12H	N62H	N76D	S103A	V104I	G159D							
N76D	S103A	V104I	S212P	V268F	E271V							
N76D	S87R	S103A	V104I	S212P	E271V							
N76D	S103A	V104I	S212P	Q245L	E271V							
N76D	S103A	V104I	T134S	S141N	S212P	E271V						
N76D	S103A	V104I	S212P	Q236L	N243S	E271V						
G20V	N62S	N76D	S103A	V104I								
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
N76D	S103A	V104I	A232V	Q245R								
S24T	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S87G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K	R275S			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	S103A	V104I	N116D	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D					
R10C	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	V203E	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	K237E	Q245R					
V68A	N76D	I79N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	N183D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	Q206L	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	S188C	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A230T	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	A98T	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A215T	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					

V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	R275H				
N76D	S103A	V104I	L257V	R275H								
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211R	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211V	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y214L	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
G20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G			
V68A	S87R	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261G				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W				
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	S242P	Q245R						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R							
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R					
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R				
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	N116T	G159D	R170S	N185S	A232V	Q236H	Q245R		
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	S99N	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			

G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212A	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	A103V	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G20A	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N173D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	K251V	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L				
P55S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256E			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	L257R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	G258D			

I8V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N269D		
V68A	S103A	V104I	N116S	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260E		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
S103A	V104I	G159D	A232S	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236R	Q245R	N248D	N252K				
N18S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245V	N248D	N252K				
V68A	N76D	S101T	S103A	V104I	G159D	T213R	N218S	A232V	Q236H	Q245R	T260A	
V68A	S103A	V104I	G159D	A228V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
T33S	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	
G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
G61E	V68A	S103A	V104I	S130A	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	A133S	Q137R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
G61E	S103A	V104I	A133V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248G	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S160V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S3L	G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S167F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G97E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
A98D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S99E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	S106E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	Q109E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R				
S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				

S103A	V104I	G159D	S166D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G20R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	G159D	Q206R	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
K27N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	E271G		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	V205I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	L126F	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R					
S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R							
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260A					
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R							
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	A194S	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	N261W		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W				
S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A					
S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V					

V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
Q12R	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
S103A	V104I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	L257V			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R				
S103A	V104I	G159D	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
A48V	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R						
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R				
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W			
G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
Q12R	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G102A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244T	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244A	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		
Q12R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Q206E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	T213Q	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	N248D	N252K			

N62D	S103A	V104I	Q109R	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S101G	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
S103A	V104I	G159D	A232V	Q245R	N248D	N252K						
S103A	V104I	G159D	A230V	Q245R								
N62D	S103A	V104I	S130G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S101G	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	S128G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	S128L	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260A			
S101G	S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98V	S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S99G	S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R						
S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N76D	S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	G159D	N185D	Q206E	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	E271Q

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny sady substitucí uvedené v Tabulce VI s výjimkou následující sady substitucí uvedené v Tabulce VIII:

Tabulka VIII

68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245
----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny sady substitucí uvedené v Tabulce IX:

Tabulka IX

68	103	104	159	232	236	245	252				
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260		
68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	140	159	232	236	245	252			
43	68	103	104	159	232	236	245	252			
43	68	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	210	232	236	245			
68	103	104	159	224	232	236	245	257			
76	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	211	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245		
68	76	103	104	159	215	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	232	236	245			
20	68	76	103	104	159	232	236	245	259		
68	76	87	103	104	159	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	232	236	245	261			
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245		
76	103	104	159	192	232	236	245				
76	103	104	147	159	232	236	245	248	251		
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272		
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245		
68	76	103	104	159	232	236	245	256			
68	76	103	104	159	206	232	236	245			
27	68	76	103	104	159	232	236	245			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		

68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
68	103	104	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	255		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252		

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny sady substitucí uvedené v Tabulce X:

Tabulka X

V68A	S103A	V104I	G159D	A228V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			

V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R				
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R		
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R			
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211V	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y214L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
G20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G		
V68A	N76D	S87R	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V		
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252S				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				

N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				

Velmi výhodné proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/103/104/232/236/245/257/275;
68/103/104/159/213/232/236/245; 76/103/104/159/232/236/245;
76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
97/103/104/159/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 101/103/104/159/232/236/245/248/252;
102/103/104/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/232/236/245;
103/104/159/248/252/270; 103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/131/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/205/209/232/236/245; a
103/104/159/232/236/245/257.

Ještě výhodnější proteázové varianty užitečné v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu obsahují sadu substitucí vybranou ze skupiny:

12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;

101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;

103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;

103A/104I/159D/248D/252K/270V;

103A/104I/159D/232V/236H/245R;

103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;

103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;

103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;

103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; a

103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

Rekombinantní proteázy / rekombinantní subtilisiny. „Rekombinantní proteáza“ nebo „rekombinantní subtilisin“ znamená proteázu nebo subtilisin, kde je DNA sekvence kódující přirozeně se vyskytující proteázu nebo subtilisin modifikována a vytváří mutantní DNA sekvenci, která kóduje substituci, inserci nebo delecii jedné nebo více aminokyselin v aminokyselinové sekvenci proteázy nebo subtilisinu. Popisují se vhodné způsoby modifikace, také v U.S. patentech RE 34,606, 5,204,015 a 5,185,258.

Nehumánní proteázy / nehumánní subtilisiny. „Nehumánní proteázy“ a „nehumánní subtilisiny“ je kódující DNA se získávají z mnohých prokaryontních a eukaryontních organismů. Vhodnými příklady prokaryontních organismů jsou gramnegativní organismy jako *E. Coli* nebo *Pseudomonas* a grampozitivní bakterie jako *Micrococcus* nebo *Bacillus*. Příklady eukaryontních organismů, ze kterých se získávají karbonylhydrolázy a jejich geny, zahrnují kvasinky jako *Saccharomyces cerevisiae*, houby jako *Aspergillus* sp. a nehumánní savčí zdroje jako např. *Bovine* sp., z kterého se získává gen kódující chymosinproteázu a chymosinsubtilisin. Řada proteáz a/nebo subtilisinů se získává z různých příbuzných druhů, které mají aminokyselinové sekvence ne zcela homologické, ale vykazují stejnou nebo podobnou biologickou aktivitu. Funkcionální definice zde používaných nehumánních proteáz nebo nehumánních subtilisinů odpovídá proteázám nebo subtilisinům přímo nebo nepřímo spojených s prokaryontními nebo eukaryontními zdroji.

Variantní DNA sekvence. Variantní DNA sekvence kódující proteázové nebo subtilisinové varianty se odvozují ze sekvence prekursorové DNA, která kóduje enzym přirozeně se vyskytujícího nebo rekombinantního prekursoru.

Ve výhodném provedení předkládaného vynálezu se variantní DNA sekvence odvozují z modifikací sekvence prekursorové DNA tak, aby kódovaly substituci, inserci nebo delecí jednoho nebo více specifických aminokyselinových zbytků kódovaných sekvencí prekursorové DNA odpovídající poloze 103 ve spojení s jednou nebo více následujícími polohami 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 a 275 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*; když jsou proteázové varianty s aminokyselinovými zbytky substituovanými v polohách odpovídajících polohám 103 a 76, je také substituován aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách jiných než jsou polohy odpovídající polohám 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 nebo 274 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*. Variantní DNA sekvence kódují výhodně proteázové varianty zde popsané.

V jiném výhodném provedení variantní DNA sekvence kódují substituci, inserci nebo delecí jednoho nebo více aminokyselinových zbytků odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*. Výhodněji kódují variantní DNA sekvence proteázové varianty zde popsané.

Ačkoli aminokyselinové sekvence určené k modifikaci se značí podle číslování *B. amyloliquefaciens*, (což je konvenční způsob značení poloh zbytků ve všech subtilisinech), výhodná sekvence prekursorové DNA použitelná v předkládaném vynálezu, je DNA sekvence *Bacillus lentus*, viz. Obr. 3.

Rekombinatní DNA sekvence kódují proteázové varianty s novou aminokyselinovou sekvencí a obecně s nejméně jednou vlastností podstatně se lišící od vlastností enzymu kódovaného DNA sekvencí prekursoru proteázy. Takové vlastnosti zahrnují proteolytickou

aktivitu, substrátovou specifitu, stabilitu, změněný profil pH a/nebo zvýšené charakteristiky působení.

Zde se popisují specifické substituce odpovídající poloze 103 ve spojení s jednou nebo více následujícími polohami 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 a 275 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*; když jsou proteázové varianty s aminokyselinovými zbytky substituovanými v polohách odpovídajících polohám 103 a 76, je také substituován aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách jiných než jsou polohy odpovídající polohám 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 nebo 274, číslování poloh odpovídá přirozeně se vyskytujícímu subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* nebo ekvivalentním aminokyselinovým zbytkům jiných karbonylhydroláz nebo subtilisinů (jako subtilisin *Bacillus lentus*). Dále se zde popisují specifické substituce odpovídající jedné nebo více následujícím polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257, číslování poloh odpovídá přirozeně se vyskytujícímu subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* nebo ekvivalentním aminokyselinovým zbytkům jiných karbonylhydroláz nebo subtilisinů (jako subtilisin *Bacillus lentus*). Číslování poloh aminokyselin odpovídá sekvenci maturovaného subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, viz. Obr. 1. Předkládaný vynález se však neomezuje na použití mutace pouze tohoto subtilisinu, ale rozšiřuje se na prekursorové proteázy obsahující aminokyselinové zbytky v polohách „ekvivalentních“ identifikovaným zbytkům v subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*.

Ve výhodném provedení předkládaného vynálezu je prekursorovou proteázou subtilisin *Bacillus lentus* a substituce, delece nebo inserce se provádějí na ekvivalentních aminokyselinových zbytcích *B. lentus* odpovídajících výše uvedenému seznamu.

Zbytek (aminokyselina) prekursorové proteázy je ekvivalentní zbytku subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, pokud je buď homologický (tzn. odpovídající polohou a primární nebo terciární strukturou) nebo analogický se specifickým zbytkem nebo oblastí zbytku

subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* (tzn. mající stejnou nebo podobnou funkční kapacitu chemické kombinace, reakce nebo interakce).

K určení homologie primární struktury, se aminokyselinová sekvence prekursorové proteázy přímo porovnává s primární sekvencí subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* a zejména se skupinou zbytků invariantních v subtilisinech, jejichž sekvence je známa. Např. Obr. 2 ukazuje konzervativní zbytky u subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* a subtilisinu *Bacillus lentus*. Po seřazení konzervativních zbytků, přípustných insercí a delecí nutných k udržení seřazení (tzn. zamezení eliminace konzervativních zbytků při svévolné delecí a inserci), se definují zbytky ekvivalentní jednotlivým aminokyselinám primární sekvence subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*. Seřazení konzervativních zbytků výhodně zachovává 100 % zbytků. Pro definování ekvivalentních zbytků je však adekvátní také seřazení větší než 75 % nebo až 50 % konzervativních zbytků. Zachovává se katalytická triáda Asp32/His64/Ser221.

Seřazení aminokyselinové sekvence subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* (*carlsbergensis*) a *Bacillus lentus* na Obr. 3 poskytuje maximální homologii mezi aminokyselinovými sekvencemi. Porovnání těchto sekvencí ukazuje, že v každé sekvenci je množství konzervativních zbytků. Obr. 2 ukazuje konzervativní zbytky u BPN'a *B. lentus*.

Tyto konzervativní zbytky se používají k definování odpovídajících ekvivalentních aminokyselinových zbytků v *Bacillus lentus* (PCT publikace WO89/06279 vydaná 13. července 1989), což je enzym prekursoru proteázy výhodné pro předkládaný vynález, nebo subtilisin označovaného jako PB92 (EP 0 328 299), který je vysoce homologní s výhodným subtilisinem *Bacillus lentus*). Aminokyselinové sekvence těchto subtilisinů jsou seřazeny na Obr. 3A a 3B se sekvencí subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* za vzniku maximální homologie konzervativních zbytků. V sekvenci subtilisinu *Bacillus lentus* je ve srovnání se subtilisinem *Bacillus amyloliquefaciens* zřetelné množství delecí. Např. ekvivalentní aminokyselina Val165 v subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* je isoleucin v subtilisinu *B. lentus* a *B. licheniformis*. Např. aminokyselina v poloze +76 je asparagin (N) jak v subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, tak *B. lentus*. V proteázových variantách podle předkládaného vynálezu je však aminokyselina ekvivalentní +76 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* substituována aspartátem (D). Zkratky a jednopísmenné kódy pro všechny aminokyseliny

v předkládaném vynálezu odpovídají Patentin User Manual (GenBank, Mountain View, CA) 1990, p. 101.

„Ekvivalentní zbytky“ jsou také definovány určením homologie na úrovni terciární struktury prekursoru proteázy, jehož terciární struktura se určila krystalograficky pomocí X-Ray. Jako ekvivalentní zbytky se definují ty, u nichž atomové koordináty dvou nebo více atomů z hlavního řetězce daného aminokyselinového zbytku prekursoru proteázy a subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jsou po seřazení (N na N, CA na CA, C na C a O na O) 0,13 nm a výhodně 0,1 nm. Seřazení se dosahuje u nejlepšího modelu zkoumané proteázy po orientaci a umístění s dosažením maximálního překryvu atomových koordinát nevodíkových atomů proteinu se subtilisinem *Bacillus amyloliquefaciens*. Nejlepší model je krystalografický model poskytující nejnižší R-faktor pro data experimentální difrakce při nejvyšším možném rozlišení.

$$R \text{ faktor} = \frac{\sum_h |F_o(h)| - |F_c(h)|}{\sum_h |F_o(h)|}$$

Ekvivalentní zbytky, což jsou funkční analogy specifického zbytku subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, se definují jako aminokyseliny prekursoru proteázy, které mohou zaujmout takovou konformaci, že alterují, modifikují nebo přispívají ke struktuře proteinu, k substrátové vazbě nebo katalýze způsobem definovaným a připsaným specifickému zbytku subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*. Dále to jsou zbytky prekursoru proteázy (jehož terciární struktura se určila krystalograficky pomocí X-Ray), které zaujímají do té míry analogickou polohu, že, ačkoliv atomy hlavního řetězce daného zbytku nevyhovují kritériím ekvivalence na základě zaujmutí homologické polohy, atomové koordináty alespoň dvou atomů postranního řetězce daného zbytku leží ve vzdálenosti 0,13 nm od odpovídajících atomů postranního řetězce subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*. Koordináty trojrozměrné struktury subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jsou zveřejněny v EPO publikaci 0 251 446 (viz též U.S. patent 5,182,204, zde uvedený v odkazech) a používají se k určení zbytků ekvivalentních na úrovni terciární struktury.

Některé zbytky určené pro substituci, inserci nebo delecí jsou konzervativní, jiné ne. V případě nekonzervativních zbytků se nahrazení jedné nebo více aminokyselin omezuje na substituce vedoucí k variantě jejíž aminokyselinová sekvence neodpovídá přirozeně se vyskytující aminokyselinové sekvenci. V případě konzervativních zbytků nahrazení nevede k přirozeně se vyskytující sekvenci. Proteázové varianty podle předkládaného vynálezu zahrnují

jak maturované formy proteázových variant, tak i jejich pro- a pre-pro-formy. Výhodná je konstrukce pre-pro-forem, neboť usnadňují expresi, sekreci a maturaci proteázových variant.

Jako „prosekvence“ se značí sekvence aminokyselin vázaných k N-terminální oblasti maturované formy proteázy, která po odstranění vede ke vzniku „maturované“ formy proteázy. Mnoho proteolytických enzymů se v přírodě vyskytuje jako translační produkty proenzymu a při absenci posttranslačních úprav se exprimují v této podobě. Výhodná prosekvence pro vznik proteázových variant je domnělá prosekvence subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, používají se však i prosekvence jiných proteáz.

Jako „signální sekvence“ nebo „presekvence“ se značí jakákoliv sekvence aminokyselin vázaných k N-terminální oblasti proteázy nebo k N-terminální oblasti proproteázy, která se účastní sekrece maturované formy nebo proformy proteázy. Tato funkcionální definice signální sekvence zahrnuje všechny aminokyselinové sekvence kódované genem N-terminální oblasti proteázy, které se účastní provedení sekrece proteázy v přirozených podmínkách. V předkládaném vynálezu se tyto sekvence používají k ovlivnění sekrece proteázových variant. Jedna možná signální sekvence zahrnuje prvních sedm aminokyselinových zbytků signální sekvence subtilisinu *Bacillus subtilis* připojených ke zbytku signální sekvence subtilisinu *Bacillus lentus* (ATCC 21536).

„Pre-pro-“ forma proteázové varianty se skládá z maturované formy proteázy, jejíž prosekvence je funkčně připojena na aminotermínus proteázy a „pre-“ nebo „signální“ sekvence je funkčně připojena na aminotermínus prosekvence.

Jako „expresní vektor“ se značí DNA konstrukt obsahující DNA sekvenci, která je funkčně připojena vhodnou kontrolní sekvencí schopnou ovlivňovat expresi dané DNA ve vhodném hostiteli. Kontrolní sekvence obsahují promoter ovlivňující transkripci, volitelnou operátorovou sekvenci kontrolující transkripci, sekvenci kódující vhodné vazebné místo m-RNA ribosomu a sekvenci kontrolující terminaci transkripce a translace. Vektor může být plasmid, fágová částice nebo jednoduše potenciální genomový insert. Po transformaci do vhodného hostitele se vektor replikuje a působí nezávisle na genomu hostitele nebo se v některých případech integruje do samotného genomu. V předkládaném vynálezu se „plasmid“ a „vektor“ někdy zaměňují, protože plasmid je v současnosti nejobecněji používaný typ vektoru. Předkládaný vynález však zahrnuje další formy expresních vektorů, které vykazují stejnou funkci a jsou v oboru známy.

„Hostitelské buňky“ používané v předkládaném vynálezu jsou obecně prokaryontní nebo eukaryontní hostitelé, se kterými se výhodně pracuje způsoby popsány v US Patent RE 34,606 činícími je neschopné sekretovat enzymaticky aktivní endoproteázy. Výhodná hostitelská buňka pro expresi proteázy je vlákno *Bacillus* BG2036, s deficitem enzymaticky aktivní neutrální proteázy a alkalické proteázy (subtilisinu). Konstrukce BG2036 je detailně popsána v U.S. patentu 5,264,366. Další hostitelské buňky pro expresi proteázy zahrnují *Bacillus subtilis* 168 (také popsány v U.S. patentu RE 34,606 a U.S. patentu 5,264,366, zde uvedeny v odkazech) a vlákno jakéhokoliv vhodného *Bacillus* např. *B. licheniformis*, *B. lentus* atd.

Hostitelské buňky se transformují nebo transfektují pomocí vektorů konstruovaných technikami rekombinantní DNA. Takto transformované hostitelské buňky jsou schopné replikovat vektory kódující proteázové varianty, nebo exprimovat žádanou proteázovou variantu. V případě vektorů kódujících pre- a pre-pro-formu proteázové varianty, jsou tyto varianty po expresi sekretovány z hostitelské buňky do média hostitelských buněk.

Při popisu vztahu dvou oblastí DNA „funkčně spojené“ znamená, že jsou jedna s druhou funkčně spřažené. Např. prosekvence je funkčně spojená s peptidem, pokud působí jako signální sekvence, účastní se sekrece maturované formy proteinu, který se pravděpodobně účastní štěpení signální sekvence. Promoter je funkčně spojený s kódující sekvencí, pokud kontroluje transkripci sekvence; vazebné místo ribozomu je funkčně spojené s kódující sekvencí pokud umístění povoluje translaci.

Geny kódující přirozeně se vyskytující prekursor proteázy se získávají obecnými způsoby odborníkům v oboru známými. Postupy obecně zahrnují syntézu značených sond s domnělými sekvencemi kódujícími oblasti žádané proteázy, přípravu genomových knihoven z organismů exprimujících proteázu a screeningové prohledávání knihoven hybridizací sond s cílem nalézt žádaný gen. Positivně hybridizované klony se poté mapují a sekvenují.

Klonovaná proteáza se poté používá k transformaci hostitelské buňky za účelem exprese proteázy. Gen proteázy se naváže na plasmid s vysokým počtem kopií. Plasmid se replikuje v hostiteli, pokud obsahuje dobře známé prvky nutné k replikaci plasmidu: promoter funkčně spojený se zkoumaným genem (může být dodán jako genu vlastní homologický promoter, pokud je rozpoznán, tzn. transkribován hostitelem), terminaci transkripce a polyadenylovanou oblast (nutnou pro stabilitu mRNA transkribované hostitelem z genu

proteázy u určitých eukaryontních hostitelských buněk), exogenní nebo dodanou endogenní terminátorovou oblast genu proteázy a žádoucí volitelný gen jako gen antibiotické resistance, který umožňuje kontinuální zachování kultury hostitelských buněk infikovaných plasmidem růstem v médiu obsahujícím antibiotika. Plasmidy s vysokým počtem kopií také obsahují počátek replikace hostitele, tak se umožní generování velkého počtu plasmidů v cytoplasmě bez chromosomální limitace. V rozsahu předkládaného vynálezu je však integrace mnohonásobných kopií genu proteázy do hostitelského genomu. To je usnadněno u prokaryontních a eukaryontních organismů, které jsou schopné homologní rekombinace. Gen může být přirozený gen *B. lentus*. Nebo se produkuje syntetický gen kódující přirozeně se vyskytující nebo mutantní prekursor proteázy. Při takovém přístupu je určena DNA a/nebo aminokyselinová sekvence prekursoru proteázy. Poté se syntetizují mnohočetné překrývající se syntetické jednovláknové DNA fragmenty, které po hybridizaci a ligaci produkují syntetickou DNA kódující prekursor proteázy. Příklad konstrukce syntetického genu je uveden v Příkladu 3 patentu US Patent 5,204,105, odkaz je zde uveden.

Po klonování přirozeně se vyskytujícího nebo syntetického prekursoru proteázy se provádí množství modifikací k lepšímu využití genu mimo syntézu přirozeně se vyskytující proteázy. Takové modifikace zahrnují produkci rekombinantních proteáz jak popisuje U.S. patent RE 34,606 a EPO publikaci 0 251 446 a zde popsanou produkci proteázových variant.

K usnadnění konstrukce proteázových variant podle předkládaného vynálezu se používá následující metoda kasetové mutagenese, použitelné jsou i jiné metody. Nejprve se získá přirozeně se vyskytující gen kódující proteázu a sekvenuje se jako celek nebo po částech. Poté se skenováním sekvence nalezne bod pro žádanou mutaci (deleci, inserci nebo substituci) jedné nebo více aminokyselin v kódovaném enzymu. V sekvencích sousedících s tímto bodem se vyhodnotí přítomnost restrikčních míst pro nahrazení krátkého segmentu genu poolem oligonukleotidů, které budou po expresi kódovat různé mutanty. Tato restrikční místa jsou výhodně unikátní místa v genu proteázy, takže je usnadněno nahrazení segmentu genu. Použitelné je však jakékoliv vhodné restrikční místo, které není v genu proteázy příliš nadbytečné, za předpokladu, že genové fragmenty generované restrikční digescí se znovu složí do náležité sekvence. Pokud se v lokaci ve vhodné vzdálenosti od zvoleného bodu (10 až 15 nukleotidů) restrikční místa nevyskytují, generují se substitucí nukleotidů v genu tak, aby v konečném konstruktu nedošlo ke změně čtecího rámu ani kódovaných aminokyselin.

Mutace genu vedoucí ke změně jeho sekvence a přizpůsobení žádané sekvenci se provádí extenzí primeru M13 obecně známými způsoby. Lokalizace vhodných sousedních oblastí a vyhodnocení nutných změn pro získání sekvencí dvou vhodných restrikčních míst se provádí rutinně zálohováním genetického kódu, restrikční enzymovou mapou genu a velkým množstvím různých restrikčních enzymů. V případě dostupnosti vhodného sousedního restrikčního místa, výše popsaný způsob se používá pouze v souvislosti se sousední oblastí neobsahující restrikční místo.

Po klonování přirozeně se vyskytující DNA nebo syntetické DNA se restrikční místa, sousedící s polohami určenými k mutaci, digestují příbuznými restrikčními enzymy a do genu se liguje mnoho termini-komplementárních oligonukleotidových kazet. Tento způsob zjednodušuje mutagenezi, protože všechny oligonukleotidy se mohou syntetizovat se shodnými restrikčními místy a k vytvoření restrikčních míst nejsou nutné syntetické linkery.

Proteolytická aktivita se zde definuje jako míra hydrolýzy peptidové vazby na miligram aktivního enzymu. Pro měření proteolytické aktivity existuje mnoho dobře známých způsobů (K.M. Kalisz, *Microbial Proteinase*, Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, A. Fiechter ed., 1988). Navíc nebo náhradou za modifikovanou proteolytickou aktivitu mají variantní enzymy podle předkládaného vynálezu jiné modifikované vlastnosti jako K_m , k_{cat} , poměr k_{cat}/K_m a/nebo modifikovanou substrátovou specifitu a/nebo modifikovaný aktivitní pH profil. Tyto enzymy se přizpůsobují předpokládanému jednotlivému substrátu, např. při přípravě peptidů nebo při hydrolytických pochodech při praní prádla.

Jednou stránkou předmětu předkládaného vynálezu je zajištění proteázové varianty, která má ve srovnání s prekursorem proteázy pozměněnou proteolytickou aktivitu, neboť zvýšení této aktivity (numericky větší) umožňuje účinnější použití enzymu s efektivnějším působením na cílový substrát. Zajímavé jsou také enzymové varianty s pozměněnou termální stabilitou a/nebo pozměněnou substrátovou specifikou ve srovnání s prekursorem. V některých případech je žádoucí nižší proteolytická aktivita, např. pokles proteolytické aktivity je užitečný v případě vyžadované syntetické aktivity proteázy (při syntéze peptidů). Proteolytická aktivita, která je schopna zničit produkt syntézy, je snížena. V jiných případech je naopak žádoucí zvýšená proteolytická aktivita enzymové varianty ve srovnání s jejím prekursorem. Navíc je žádoucí zvýšení nebo pokles (alterace) alkalické nebo termální stability

varianty. Zvýšení nebo pokles K_m , k_{cat} nebo k_{cat}/K_m je specifický pro substrát použitý k určení těchto kinetických parametrů.

Jinou stránkou předkládaného vynálezu je stanovení, že substituce v poloze 103 ve spojení s jednou nebo více následujícími polohami 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 a 275 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* je důležitá pro modulaci celkové stability a/nebo proteolytické aktivity enzymu.

Další stránkou předkládaného vynálezu je stanovení, že substituce v jedné nebo více následujících polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* je také důležitá pro modulaci celkové stability a/nebo proteolytické aktivity enzymu.

Tyto substituce se výhodně provádějí v subtilisinu *Bacillus lentus* (rekombinantním nebo přirozeném), substituce jsou však proveditelné v proteáze libovolného *Bacillus*.

Na základě screeningových výsledků získaných u variantních proteáz jsou vyznačené mutace subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* důležité pro proteolytickou aktivitu, působení a/nebo stabilitu těchto enzymů a čistící nebo prací působení takových variantních enzymů.

Způsoby a postupy přípravy enzymů použitých v detergentních a bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou známé a popsány v PCT publikaci WO 95/10615.

Enzymy podle předkládaného vynálezu mají specifitu podobnou tripsinu. To jest, enzymy podle předkládaného vynálezu hydrolyzují proteiny spíše přednostním štěpením peptidových vazeb aminokyselinových zbytků s nábojem, zejména argininu a lysinu, než přednostním štěpením peptidových vazeb hydrofobních aminokyselinových zbytků, zejména fenylalaninu, tryptofanu a tyrosinu. Enzymy s druhým uvedeným profilem mají specifitu podobnou chymotripsinu. Výše diskutovaná substrátová specifita se ilustruje působením enzymu na dva syntetické substráty. Proteázy se specifitou podobnou tripsinu přednostně hydrolyzují syntetický substrát bVGR-pNA oproti syntetickému substrátu sucAAPF-pNA.

Proteázové enzymy mající specifitu podobnou chymotripsinu oproti tomu hydrolyzují druhý uvedený substrát mnohem rychleji než ten první. Pro účely předkládaného vynálezu se k definici trypsinu podobné specifity proteázových enzymů podle předkládaného vynálezu použil následující postup:

Do standardní 10ml zkumavky se při teplotě 25 °C a pH 10 přidá fixní množství glycinového pufru. Do zkumavky se přidá 0,5 ppm testovaného aktivního enzymu. Do zkumavky se přidá 1,25 mg syntetického substrátu na ml pufového roztoku. Směs se inkubuje 15 minut při 25 °C. Po uplynutí inkubační doby se ke směsi přidá inhibitor enzymu, PMSF, 0,5 mg na ml pufového roztoku. Absorbance nebo OD hodnota směsi se odečte při vlnové délce 410 nm. Absorbance indikuje aktivitu enzymu na syntetický substrát. Čím vyšší je absorbance, tím vyšší je úroveň aktivity na substrát.

Pro stanovení specifity individuálního enzymu se absorbance u dvou syntetických substrátových proteinů dá do specifitního poměru. Pro účely předkládaného vynálezu je to poměr:

$$[\text{aktivita na sAAPF-pNA}]/[\text{aktivita na bVGR-pNA}]$$

Enzym s poměrem nižším než 10, výhodně nižším než 5 a nejvýhodněji nižším než 2,5 vykazuje trypsinupodobnou aktivitu.

Takové varianty obecně mají alespoň jednu vlastnost lišící se od stejné vlastnosti prekursoru proteázy, od které je aminokyselinová sekvence varianty odvozena.

Jednou stránkou předkládaného vynálezu jsou prostředky, jako detergentní a bělicí prostředky, určené pro tkaniny, nádobí, prostírání, kuchyňské a kuchařské nádobí a náčiní a další pevné povrchy, které obsahují jednu nebo více variantních proteáz podle předkládaného vynálezu. Prostředky obsahující proteázy se používají na např. hedvábí nebo vlnu, na další typy látek, jak se popisuje v RD 216,034, EP 134,267, US 4,533,359 a EP 344,259; nádobí, prostírání, kuchyňské a kuchařské nádobí a náčiní a další pevné povrchy, jak se popisuje v US 5,478,742, US 5,346,822, US 5,679,630 a US 5,677,272.

II. Bělicí činidla. Bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu obsahují bělicí činidlo, které výhodně představuje 0,5 až 20 % hmotnosti prostředku. Bělicí činidlo je buď značně nerozpustná, výhodně pevná organická peroxokyselina, nebo bělicí systém obsahující bělicí aktivátor a peroxygenovou bělicí sloučeninu schopnou uvolnit peroxid vodíku, nebo kombinace obou. Peroxokyselina, obsažená v prostředku nebo vytvořená spojením aktivátoru

s peroxygenovou sloučeninou, má výhodně odpovídající karboxylovou kyselinu, která má hodnotu hydrofilní-lipofilní rovnováhy ("H.L.B.") v rozmezí 3 až 6,5. K charakterizaci výhodných peroxokyselin (z aktivátorů nebo předpřipravených peroxokyselin) použitelných podle předkládaného vynálezu se používá způsob "H.L.B. Scale" který popsal J.T. Davies Proc. 2nd Internat. Congr. Surface Activity 1, 426, Butterworths, London (1957), odkaz je zde uveden. H.L.B. Scale (hydrofilní-lipofilní rovnováha) se používá při studiu povrchově aktivních činidel (surfaktantů) jako prostředek uvádějící do vztahu distribuce povrchově aktivního činidla mezi hydrofilní (vodnou) a lipofilní (olejovou) fází. Takto se hodnoty HLB používají pro indikaci lipofilního (hydrofilního) charakteru aktivních bělicích činidel při praní (schopnost peroxokyseliny vydělit se z promývací kapaliny a koncentrovat na místě styku skvrny a látky).

Tabulka A udává HLB hodnoty vypočítané pro vybrané peroxokyseliny (jako odpovídající karboxylové kyseliny). Vztah pro výpočet HLB hodnot je:

$$\text{HLB} = \text{suma (počet hydrofilních skupin)} - \text{suma (počet hydrofobních skupin)} + 7$$

Hodnoty pro počet hydrofilních skupin jsou $[-\text{C}(\text{O})\text{OH} \ \& \ -\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})- = 2,1]$ a hodnoty pro počet hydrofobních skupin jsou [alifatický/aromatický uhlík = 0,475 & alifatické uhlíkové atomy mezi polárními skupinami jsou $\frac{1}{2}$ hodnoty alifatického uhlíku v uhlovodíkovém řetězci = $(0,475)/2$]. HLB hodnota > 7 značí, že látka je přednostně rozpustná ve vodě a HLB hodnota < 7 značí narůstající povrchovou aktivitu a hydrofobitu.

Tabulka A

HLB hodnoty pro různé peroxokyseliny

Aktivátor / preformovaná peroxokyselina	Zkratka	Peroxokyselina	HLB odpovídající karboxylové kyseliny
tetraacetyلهthylendiamin	TAED	$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{OOH}$	8,6
diperoxododekandiová kyselina	DPDDA	$\text{HOO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(\text{O})\text{OOH}$	6,5
nonylamid peroxojantarové kyseliny	NAPSA	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{OOH}$	6,4
benzoyloxybenzensulfonát	BOBS	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}(\text{O})\text{OOH}$	6,3
nonylamid peroxoadipové	NAPAA	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{OOH}$	6,0

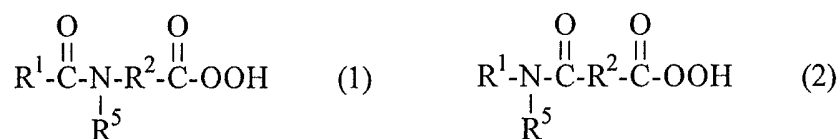
kyseliny		$\text{C(O)(CH}_2)_4\text{C(O)OOH}$	
nonanoyloxybenzensulfonát	NOBS	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{C(O)OOH}$	5,3
dekanoyloxybenzensulfonát	DOBS	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{C(O)OOH}$	4,8
peroxolaurinová kyselina	PLA	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C(O)OOH}$	3,9

Jak se výše uvádí, výhodný rozsah HLB hodnot (odpovídajících karboxylových kyselin) pro peroxokyseliny podle předkládaného vynálezu (ať přímo přidané nebo generované *in situ*) je 3,0 až 6,5. Výhodnější rozsah HLB hodnot (odpovídajících karboxylových kyselin) pro peroxokyseliny podle předkládaného vynálezu (ať přímo přidané nebo generované *in situ*) je 4,0 až 6,5. Nejvýhodnější rozsah HLB hodnot (odpovídajících karboxylových kyselin) pro peroxokyseliny podle předkládaného vynálezu (ať přímo přidané nebo generované *in situ*) je 4,0 až 6,0.

(a) Peroxokyseliny. Předkládaný vynález zahrnuje detergentní prostředky obsahující efektivní množství enzymu proteázy a bělicí systém obsahující nejméně 0,1 %, výhodně 0,1 až 50 % hmotnosti podstatně nerozpustné organické peroxokyseliny. Použitá peroxokyselina výhodně představuje 0,5 až 20 %, výhodněji 1 až 10 %, nejvýhodněji 2 až 7 % hmotnosti prostředku.

Výhodné organické peroxokyseliny se vybírají ze skupiny obsahující 4-nonylamino-4-oxoperoxobutyrovou kyselinu, 6-(nonylamino)-6-oxoperoxokaprovou kyselinu, 1,12-diperoxododekandiovou kyselinu, heptylsulfonylperpropionovou kyselinu, decylsulfonylperpropionovou kyselinu a heptyl-, oktyl-, nonyl-, decylsulfonylperbutyrovou kyselinu a jejich směsi.

Z organických kyselin jsou výhodné amidoperoxokyseliny (peroxokarboxylové kyseliny se substituovaným amidem). Použitelné amidoperoxokyseliny se popisují v U.S. patentech 4,634,551 a 4,686,063, Burns et al., vydáno 6. ledna 1987 a 11. srpna 1987, oba jsou uvedeny v odkazech. Vhodné amidoperoxokyseliny mají obecný vzorec 1 a 2:



Kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku (výhodně je R^1 alkylová skupina obsahující 6 až 12 atomů uhlíku), R^2 je alkýlenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku (výhodně je R^2 alkýlenová skupina obsahující 1 až 6 atomů uhlíku) a R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku (výhodně R^5 je H). Výhodněji je R^1 alkylová skupina obsahující 8 až 10 atomů uhlíku) a R^2 je alkýlenová skupina obsahující 2 až 4 atomů uhlíku.

Další výhodná preformovaná peroxokyselina je E-ftalimido-peroxooctová kyselina („PAP“). Viz U.S. patenty 5,487,818, 5,310,934, 5,246,620, 5,279,757 a 5,132,431.

Další vhodné peroxokapronové kyseliny zahrnují ale nejsou omezeny na N,N'-tereftaloyl-di-(5-aminoperoxokapronovou) kyselinu („TPCAP“) a další popsané v U.S. patentu 5,770,551. Jako peroxokyselina je použitelná také N-nonanoyl-6-aminoperoxokapronová kyselina („NAPCA“). Viz U.S. patenty 5,523,434, 4,634,551 a 4,852,989.

Použitelné jsou také peroxofumaráty, popsané Burnsem et al. v US. Patent 4,852,989, vydaném 1. srpna 1989, odkaz je zde uveden, a sulfonperoxokyseliny (sulfonperoxokarboxylové kyseliny), popsané Dryoffem et al. v US Patentech 4,758,369, 4,824,591 a 5,004,558, vydaných 19. července 1988, 25. dubna 1989 a 2. dubna 1991, odazy jsou zde uvedeny.

Příklad I z US patentu 4,686,063 obsahuje popis syntézy NAPSA, sloupec 8, řádka 40 až sloupec 9, řádka 5 a NAPAA, sloupec 9, řádka 15 až sloupec 9, řádka 65. Na konci syntézy amidoperoxokyseliny se reakce ukončí vodou, směs se zfiltruje, promytím vodou se odstraní přebytek kyseliny sírové (nebo jiné silné kyseliny použité při přípravě peroxokyseliny) a směs se opět filtruje.

K vlhkému koláči takto získané amidoperoxokyseliny se přidá roztok fosfátového pufru s pH 3,5 až 6, výhodně 4 až 5, viz US patent 4,909,953, Sadlowski et al., vydaný 20. března 1990, odkaz je zde uveden.

Před inkorporací do finálního produktu se k amidoperoxokyselině přidávají další činidla pro stabilizaci při uskladnění nebo k exotermické kontrole. Např. kyselina boritá, exotermické kontrolní činidlo popsané Burnsem v US Patentu 4,686,063, vydaném 11. srpna 1987, odkaz je zde uveden, se smíchá s amidoperoxokyselinou (která se promyla fosfátovým

pufrem) v poměru peroxokyseliny a kyseliny borité 2:1. Amidoperoxokyselina promytá fosfátovým pufrem se také může smíchat s příslušným množstvím dipikolinové kyseliny a pyrofosfátu tetrasodného, chelatačního stabilizačního systému. Chelatační činidla se mohou přidat do fosfátového pufru před přidávkou vlhkého koláče amidoperoxokyseliny.

Vlhký koláč se výhodně skládá z částic o průměru 0,1 až 260 mikronů, výhodně 10 až 100 mikronů a nejvýhodněji 30 až 60 mikronů. Žádoucí jsou krystaly NAPAA s malou velikostí částic. Viz US Patent 5,055,218, Getty et al., vydaný 8. října 1991, odkaz je zde uveden.

Filtrovaný koláč NAPAA se výhodně promývá dvakrát fosfátovým pufrem. Zjistilo se, že dvoje po sobě jsoucí promytí fosfátovým pufrem uděluje NAPAA optimální stabilitu.

Výhodné jsou pevné organické peroxokyseliny s teoretickým AvO (dostupným kyslíkem) 3 až 12, výhodně 5 až 7.

Nejvýhodnější použití zde má NAPAA. Jiný název pro nonylamid peroxoadipové kyseliny („NAPAA“) je 6-(nonylamino)-6-oxoperoxokapronová kyselina. Chemický vzorec NAPAA je $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{N}(\text{H})-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_4\text{C}(\text{O})\text{OOH}$. Molekulová hmotnost NAPAA je 287,4.

Detergentní prostředky a bělicí prostředky obsahující NAPAA vykazují velmi efektivní a ekonomické bělení povrchu tkanin. Skvrny a/nebo špína se z tkanin odstraní. Tyto prostředky jsou zejména účinné při odstraňování zašlých skvrn z tkanin.

Polární amidová nebo substituovaná amidová skupina v NAPAA vede k peroxokyselině, která má velmi nízkou tenzi par a nízký vonný profil a současně výborné bělicí vlastnosti. Má se za to, že polarita amidové skupiny vede k redukci tenze par peroxokyseliny a ke zvýšení bodu tání.

NAPAA se používá přímo jako bělicí činidlo. Má redukovanou tenzi par a dobrý vonný profil při použití v praní.

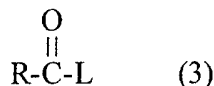
NAPAA se připravuje např. reakcí NAPAA (monononylamidu kyseliny adipové) s kyselinou sirovou a peroxidem vodíku. Reakce se ukončí nalitím směsi do ledové vody, filtrací, promytím destilovanou vodou a konečnou odsávací filtrací za vzniku vlhkého koláče. Promývání pokračuje až do neutrálního pH filtrátu.

Výhodné pH NAPAA (10% pevná látka ve vodě) je 4,2 až 4,8. Tato hodnota pH překvapivě vede k lepší termální stabilitě částic.

(a) Bělicí systém- bělidlový aktivátor a peroxygenová bělicí sloučenina

(i) Bělidlové aktivátory

Bělidlový aktivátor užitečný v bělicích systémech podle předkládaného vynálezu má výhodný obecný vzorec 3:

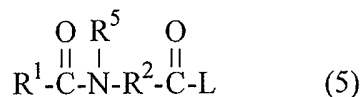
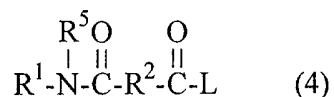


Kde R je alkylová skupina obsahující 5 až 18 atomů uhlíku kde nejdelší lineární alkylový řetězec vycházející z a zahrnující karbonylový uhlík obsahuje 6 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina, konjugovaná kyselina má pKa 4 až 13, výhodně 6 až 11, nejvýhodněji 8 až 11.

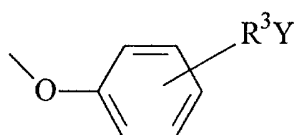
V zásadě je L jakákoliv vhodná odstupující skupina. Odstupující skupina je jakákoliv skupina, která odstupuje z bělidlového aktivátoru jako následek nukleofilního ataku peroxohydroxidového aniontu na bělidlový aktivátor. Perhydrolyzační reakce vede ke vzniku peoxorkarboxylové kyseliny. Obecně musí vhodná odstupující skupina vykazovat elektrony přitahující efekt. To usnadní nukleofilní atak perhydroxidového aniontu.

Skupina L musí být dostatečně reaktivní, aby reakce proběhla v optimálním časovém úseku (např. promývací cyklus). Pokud je však L příliš reaktivní, bude obtížné aktivátor stabilizovat. Tyto charakteristiky jsou obecně paralelní s pKa profilem konjugované kyseliny odstupující skupiny, ačkoliv jsou známy i výjimky.

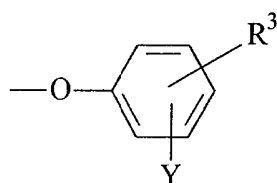
Výhodné bělidlové aktivátory mají obecný vzorec 4 a 5:



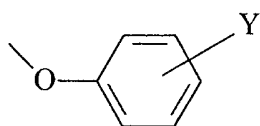
Kde R¹ je alkylová skupina obsahující 6 až 12 atomů uhlíku, R² je alkylénová skupina obsahující 1 až 6 atomů uhlíku, R⁵ je H, alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 6 až 15:



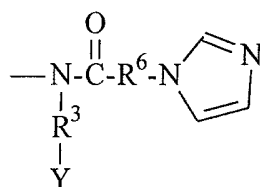
(6)



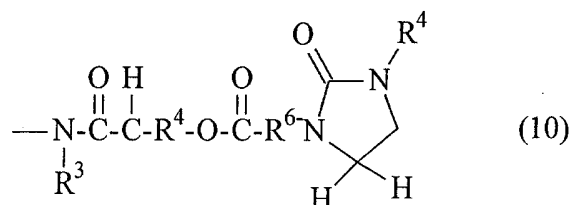
(7)



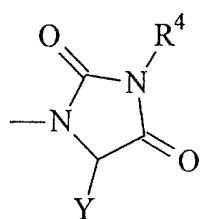
(8)



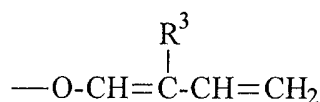
(9)



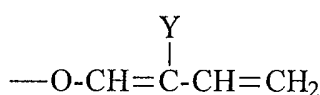
(10)



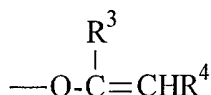
(11)



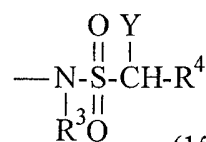
(12)



(13)

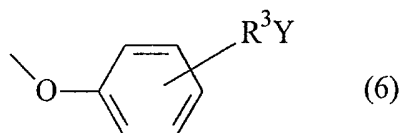


(14)



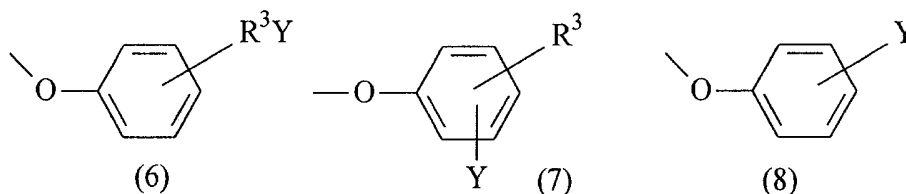
(15)

Kde R^6 je alkylenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^3 je alkylový řetězec obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, R^4 je H nebo R^3 a Y je H nebo solubilizující skupina. Y se výhodně vybírá ze skupiny obsahující $-\text{SO}_3\text{-M}^+$, $-\text{COO-M}^+$, $-\text{SO}_4\text{-M}^+$, $(\text{-N+R}'_3)\text{X-}$ a $\text{O} \leftarrow \text{N(R}'_3)$, kde R' je alkylový řetězec obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, M je kation vedoucí k rozpustnosti bělidlového aktivátoru a X je anion vedoucí k rozpustnosti bělidlového aktivátoru. M je výhodně alkalický kov, nesubstituovaný nebo substituovaný kation amonný, nejvýhodněji sodík nebo draslík a anion X je halogenid, hydroxid, methylsírán nebo octan. Y je nejvýhodněji $-\text{SO}_3\text{-M}^+$ nebo $-\text{COO-M}^+$. Je nutno dodat, že u bělidlových aktivátorů, jejichž odstupující skupina neobsahuje solubilizační skupinu, přispívá k jejich rozpustnosti dobrá disperzace v bělicím roztoku. Výhodný je obecný vzorec 6:



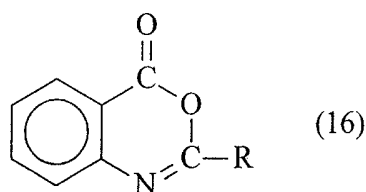
Kde R^3 se definuje výše a Y je $-\text{SO}_3-\text{M}^+$ nebo $-\text{COO}-\text{M}^+$, kde M se definuje výše.

Zvláště výhodné bělidlové aktivátory jsou ty, kde R^1 je lineární alkylový řetězec obsahující 6 až 12 atomů uhlíku, R^2 je lineární alkylenový řetězec obsahující 2 až 6 atomů uhlíku, R^5 je H a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 6 až 8:



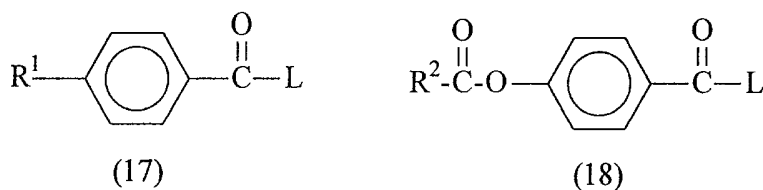
Kde R^3 se definuje výše a Y je $-\text{SO}_3-\text{M}^+$ nebo $-\text{COO}-\text{M}^+$, a M se definuje výše.

Výhodný bělidlový aktivátor má obecný vzorec 16:



Kde R je H, alkylová, arylová nebo alkarylová skupina. Popis viz U.S. patent 4,966,723, Hodge et al., odkaz je zde uveden.

Výhodné bělidlové aktivátory mají obecný vzorec 17 a 18:

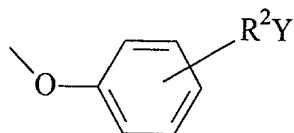


Kde R^1 je alkylová skupina obsahující 1 až 6 atomů uhlíku a R^2 je alkylová skupina obsahující 1 až 6 atomů uhlíku a L se definuje výše.

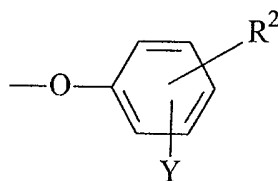
Výhodné bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde L se v obecném vzorci výše definuje a R^1 je H nebo alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku.

Ještě výhodnější bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde L se v obecném vzorci výše definuje a R^1 je H.

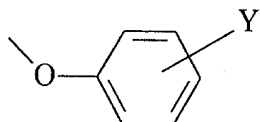
Výhodnější bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde R je lineární alkylový řetězec obsahující 5 až 9, výhodně 6 až 8 atomů uhlíku a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 8 a 19 až 25:



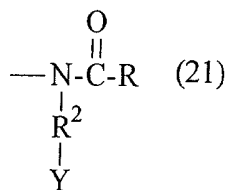
(19)



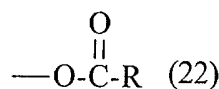
(20)



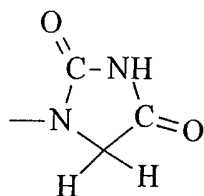
(8)



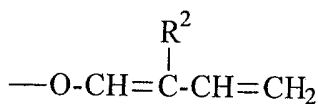
(21)



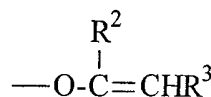
(22)



(23)



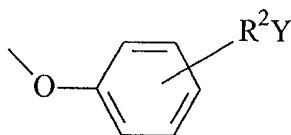
(24)



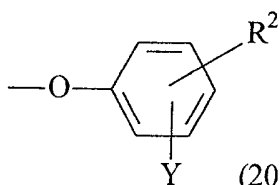
(25)

Kde R, R², R³ a Y se definují výše.

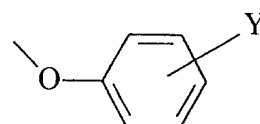
Zvláště výhodné bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde R je alkylová skupina obsahující 5 až 12 atomů uhlíku, kde nejdelší lineární část alkylového řetězce vycházející z a včetně karbonylového uhlíku obsahuje 6 až 10 atomů uhlíku a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 8, 19 a 20:



(19)



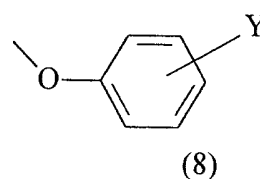
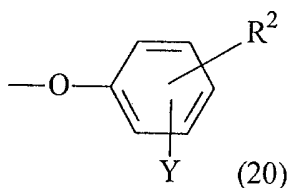
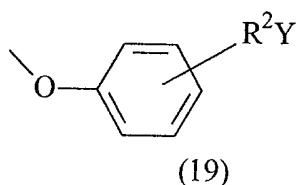
(20)



(8)

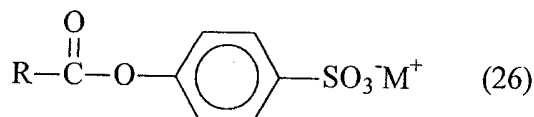
Kde R² je alkylový řetězec obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a Y je -SO₃-M⁺ nebo -COO-M⁺, kde M je alkalický kov, nesubstituovaný nebo substituovaný kation amonný.

Zvláště výhodné bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde R je lineární alkylový řetězec obsahující 5 až 9, výhodně 6 až 8 atomů uhlíku a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 8, 19 a 20:



Kde R^2 se definuje výše a Y je $-\text{SO}_3-\text{M}^+$ nebo $-\text{COO}-\text{M}^+$, a M se definuje výše.

Nejvýhodnější bělidlové aktivátory mají obecný vzorec 26:

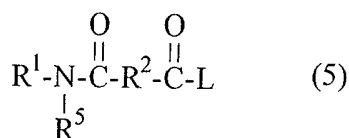
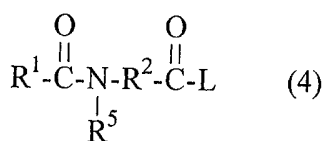


Kde R je lineární alkylový řetězec obsahující 5 až 9, výhodně 6 až 8 atomů uhlíku a M je sodík nebo draslík.

Bělidlový aktivátor podle předkládaného vynálezu je výhodně nonanoyloxybenzensulfonát sodný (NOBS) nebo benzoyloxybenzensulfonát sodný (BOBS).

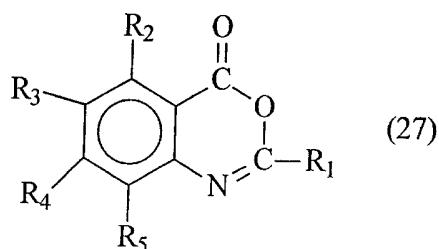
Výhodné pro použití v bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou následující bělidlové aktivátory, které jsou obzvlášť bezpečné pro použití u strojů se součástkami z přírodní gumy. Při perhydrolyzační reakci těchto bělidlových aktivátorů odvozených od amidokyselin, nedochází ke vzniku olejovitých diacylperoxidových (DAP) látek, spíše ke vzniku nerozpustných pevných krystalických DAP látek. Tyto pevné látky nevytvářejí povlak a součástky z přírodní gumy nejsou tak vystaveny prodlouženému působení DAP látek. Tyto výhodné bělidlové aktivátory patří do skupiny obsahující:

(a) Bělidlový aktivátor obecného vzorce 4 a 5:



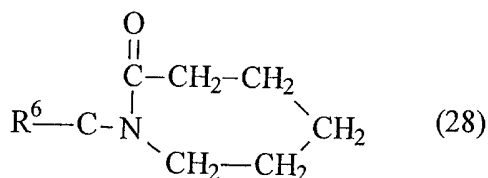
nebo jejich směsi, kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^2 je alkylenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina;

(b) Bělidlové aktivátory benzoxazinového typu obecného vzorce 27:



kde R_1 je alkylová, arylová, alkarylová nebo arylalkylová skupina a kde R_2 , R_3 , R_4 a R_5 jsou shodné nebo rozdílné substituenty ze skupiny obsahující H, halogen, alkylovou, alkenylovou, arylovou, hydroxylovou, alkoxylovou, amino-, alkylamino-, COOR_6 (kde R_6 je H nebo alkylová skupina) a karbonylovou skupinu;

(c) N-acylkaprolaktamové bělidlové aktivátory obecného vzorce 28:



kde R^6 je H nebo alkylová, arylová, alkoxylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 12 atomů uhlíku; a

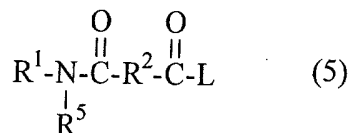
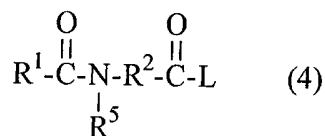
(d) směsi a), b) a c).

Výhodné bělidlové aktivátory typu a) jsou ty, kde R^1 je alkylová skupina obsahující 6 až 12 atomů uhlíku, R^2 obsahuje 1 až 8 atomů uhlíku a R^5 je H nebo methylová skupina. Zvláště výhodné bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde R^1 alkylová skupina obsahující 7 až 10 atomů uhlíku a R^2 obsahuje 4 až 5 atomů uhlíku.

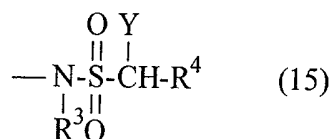
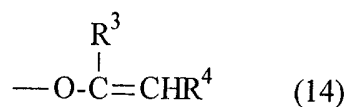
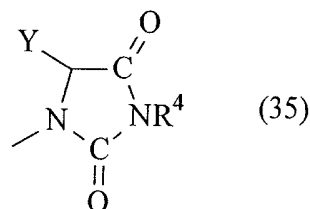
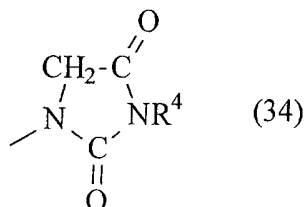
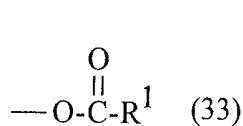
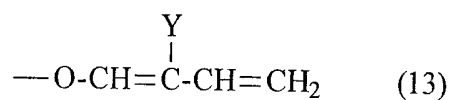
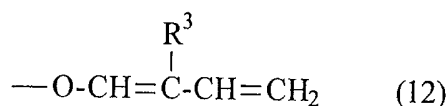
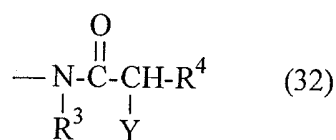
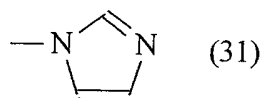
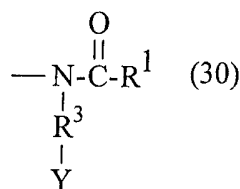
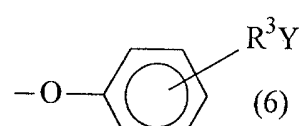
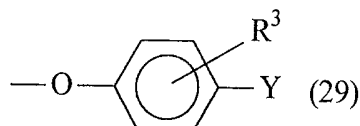
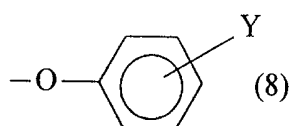
Výhodné bělidlové aktivátory typu b) jsou ty, kde R_2 , R_3 , R_4 a R_5 jsou H a R_1 je fenylová skupina.

Výhodné acylskupiny N-acylkaprolaktamových bělidlových aktivátorů bělení typu c) mají obecný vzorec $R^6\text{-CO-}$, kde R^6 je H nebo alkylová, arylová, alkoxylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 12 atomů uhlíku, výhodně 6 až 12 atomů uhlíku. Ve velmi výhodném provedení se R^6 vybírá ze skupiny obsahující fenylovou, heptylovou, oktylovou, nonylovou, 2,4,4-trimethylpentylovou, decenylovou skupinu a jejich směsi.

Bělidlové aktivátory odvozené od amidů. Bělidlové aktivátory typu a) podle předkládaného vynálezu jsou substituované amidové sloučeniny obecného vzorce 4 a 5:



nebo jejich směsi, kde R^1 , R^2 a R^5 se definují výše a L je jakákoliv vhodná odstupující skupina. Výhodné bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde R^1 , R^2 a R^5 se definují jako pro peroxokyselinu a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 6, 8, 12 až 15 a 29 až 35:

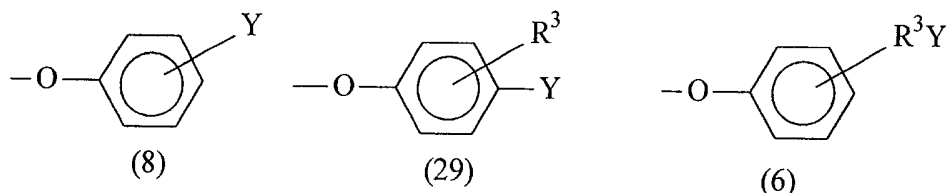


a jejich směsi, kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^3 je alkylový řetězec obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, R^4 je H nebo R^3 a Y je H nebo solubilizující skupina.

Výhodné solubilizující skupiny jsou $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$, $-\text{CO}_2^-\text{M}^+$, $-\text{SO}_4^-\text{M}^+$, $(-\text{N}+\text{R}^3)_4\text{X}^-$ a $\text{O} \leftarrow \text{N}(\text{R}^3)_3$, a nejvýhodněji $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ a $-\text{CO}_2^-\text{M}^+$, kde R^3 je alkylový řetězec obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, M je kation, který přispívá k rozpustnosti bělidlového aktivátoru a X je anion, který přispívá k rozpustnosti bělidlového aktivátoru. Výhodně je M alkalický kov,

nesubstituovaný nebo substituovaný kation amonný a výhodně sodík nebo draslík, X je výhodně halogenidový, hydroxidový, methylsíránový nebo octanový anion. Je nutno dodat, že u bělidlových aktivátorů, jejichž odstupující skupina neobsahuje solubilizační skupinu, přispívá k jejich rozpustnosti dobrá disperzace v bělicím roztoku.

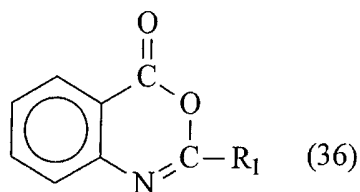
Výhodné bělidlové aktivátory mají výše uvedený obecný vzorec, kde L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 6, 8 a 29:



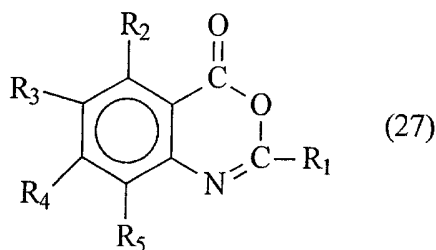
kde R^3 se definuje výše a Y je $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ nebo $-\text{CO}_2^-\text{M}^+$, kde M se definuje výše.

Další důležitá skupina bělidlových aktivátorů, včetně bělidlových aktivátorů typu b) a typu c), poskytuje zde popisované organické peroxokyseliny otevřením kruhu jako následek nukleofilního ataku perhydroxidového aniontu na karbonylový uhlík cyklu. Např. reakce vedoucí k otevření kruhu u aktivátorů typu c) zahrnuje atak peroxidu vodíku nebo jeho aniontu na karbonyl kaprolaktamového kruhu. Protože k ataku peroxidu vodíku nebo jeho aniontu na acylkaprolaktam dochází přednostně na exocyklickém karbonylu, k získání podstatného podílu produktu vzniklého otevřením kruhu je zapotřebí katalyzátor. Dalším příkladem bělidlových aktivátorů s otevřením kruhu jsou aktivátory typu b), např. popsané v US Patentu 4,966,723 Hodge et al., vydáno 30. října 1990.

Bělidlové aktivátory benzoxazinového typu. Tyto sloučeniny popsané Hodgem zahrnují aktivátory benzoxazinového typu obecného vzorce 36:

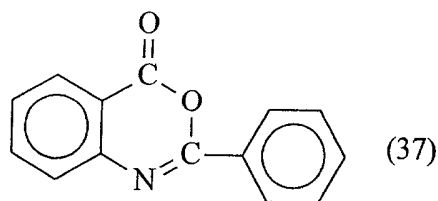


včetně substituovaných benzoxazinů obecného vzorce 27:



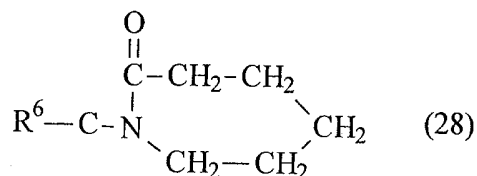
Kde R_1 je H, alkyl, alkaryl, aryl, arylalkyl a kde R_2 , R_3 , R_4 a R_5 jsou shodné nebo rozdílné substituenty ze skupiny obsahující H, halogenovou, alkylovou, alkenylovou, arylovou, hydroxylovou, alkoxylovou, aminovou, alkylaminovou, COOR_6 (kde R_6 je H nebo alkylová skupina) a karbonylovou skupinu.

Výhodný aktivátor benzoxazinového typu je obecného vzorce 37:



Při použití aktivátorů se optimálního bělicího účinku na povrchu dosahuje v pracích roztocích s pH 8,5 až 10,5, výhodně 9,5 až 10,5, kdy je usnadněna perhydrolyzační reakce. Tohoto pH se dosahuje pomocí látek obecně známých jako pufrující činidla, která jsou obsažena ve zde uváděných bělicích prostředcích.

N-acylkaprolaktamové bělidlové aktivátory. N-acylkaprolaktamové bělidlové aktivátory typu c) použité v předkládaném vynálezu mají obecný vzorec 28:



Kde R^6 je H nebo alkylová, arylová, alkoxyarylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 12 atomů uhlíku. Kaprolaktamové aktivátory, kde skupina R^6 obsahuje alespoň 6, výhodně 6 až 12 atomů uhlíku poskytují hydrofobní bělení, které umožňuje vyčištění skvrn nukleofilního a tělesného původu. Kaprolaktamové aktivátory, kde R^6 obsahuje 1 až 6 atomů uhlíku vedou k hydrofilním bělicím látkám, které jsou zejména efektivní pro bělení skvrn od nápojů. Směsi hydrofobních a hydrofilních kaprolaktamů, obvykle ve váhovém poměru 1:5 až 5:1, výhodně 1:1 se používají pro odstranění smíšených skvrn.

Velmi výhodné N-acylkaprolaktamy se vybírají ze skupiny obsahující benzoylkaprolaktam, oktanoylkaprolaktam, nonanoylkaprolaktam, 3,5,5-trimethylhexanoylkaprolaktam, dekanoylkaprolaktam, undecenoylkaprolaktam a jejich směsi. Způsoby přípravy N-acylkaprolaktamů jsou v oboru dobře známy.

Na rozdíl od popisu US Patentu 4,545,784, se bělidlový aktivátor výhodně neabsorbuje na peroxygenovou bělicí sloučeninu. V přítomnosti dalších deterzivních přísad by to způsobovalo problémy s bezpečností.

Bělidlové aktivátory typu a), b) nebo c) představují alespoň 0,01 %, výhodně 0,1 %, výhodněji 1 %, nejvýhodněji alespoň 3 %, maximálně 50 %, výhodně 30 %, výhodněji 15 %, ještě výhodněji 10 % a nejvýhodněji maximálně 8 % hmotnosti bělicího systému nebo bělicího prostředku.

Výhodné od amidů odvozené nebo kaprolaktamové bělidlové aktivátory se také používají v kombinaci s vůči gumě bezpečnými, hydrofilními aktivátory bezpečnými vůči působení enzymů jako TAED, obvykle ve váhovém poměru od amidů odvozených nebo kaprolaktamových aktivátorů TAED v rozmezí 1:5 až 5:1, výhodně 1:1.

Velmi výhodné aktivátory bělení se vybírají ze skupiny obsahující tetraacetyethylendiamin (TAED), benzoylkaprolaktam (BzCl), 4-nitrobenzoylkaprolaktam, 3-chlorbenzoylkaprolaktam, benzoyloxybenzensulfonát (BOBS), nonanoyloxybenzensulfonát (NOBS), fenylbenzoát (PhBz), dekanoyloxybenzensulfonát (C₁₀-OBS), benzoylvalerolaktam (BZVL), oktanoyloxybenzensulfonát (C₈-OBS), perhydrolyzovatelné estery a jejich směsi, nejvýhodněji benzoylkaprolaktam a benzoylvalerolaktam. Zejména výhodné aktivátory bělení v rozmezí pH 8 až 9 jsou ty, které mají OBS nebo VL odstupující skupinu.

Další výhodné aktivátory bělení se popisují v US 5,698,504, Christie et al., vydáno 16. prosince 1997; US 5,695,679, Christie et al., vydáno 9. prosinec 1997; US 5,686,401, Willey et al., vydáno 11. listopadu 1997; US 5,686,014, Hartshorn et al., vydáno 11. listopadu 1997; US 5,405,412, Willey et al., vydáno 11. dubna 1995; US 5,404,413, Willey et al., vydáno 11. dubna 1995; US 5,130,045, Mitchel et al., vydáno 14. července 1992 a US 4,412,934, Chung et al., vydáno 1. listopadu 1983 a kopendující patentové přihlášky U.S. 08/709,072, 08/064,564, všechny odkazy jsou zde uvedeny.

Výhodné hydrofobní aktivátory bělení zahrnují, ale nejsou omezeny na nonanoyloxybenzensulfonát (NOBS), sodnou sůl 4-[N-(nonanoyl)aminoheksanoyloxy]-benzensulfonátu (NACA-OBS), např. popsána v U.S. patentu 5,523,434, dodekanoyloxybenzensulfonát (LOBS nebo C₁₂-OBS), 10- undecenoyloxybenzensulfonát (UDOBS nebo C₁₁-OBS, v poloze 10 nenasyčený), a dekanoyloxybenzoovou kyselinu (DOBA).

Také jsou zahrnuty kvarterní substituované bělidlové aktivátory. Čistící prostředky podle předkládaného vynálezu výhodně obsahují kvarterní substituovaný bělidlový aktivátor (QSBA) nebo kvarterní substituovanou perkyselinu (QSP), výhodný je kvarterní substituovaný bělidlový aktivátor. Výhodné struktury QSBA se popisují v US 5,686,015, Wiley et al., vydán 11. listopadu 1997; US 5,654,421, Taylor et al., vydán 5. srpna 1997; US 5,460,747, Gosselink et al., vydán 24. října 1995; US 5,584,888, Miracle et al., vydán 17. prosince 1996 a US 5,578,136, Taylor et al., vydán 26. listopadu 1996; všechny odkazy jsou zde uvedeny.

Velmi výhodné bělidlové aktivátory podle předkládaného vynálezu jsou substituované amidové bělidlové aktivátory, popsané ve výše citovaných US 5,698,504, US 5,695,679 a US 5,686,014. Výhodné příklady těchto bělidlových aktivátorů zahrnují (6-oktanamidokapronoyl)oxybenzensulfonát, (6-nonanamidokapronoyl)oxybenzensulfonát, (6-dekanamidokapronoyl)oxybenzensulfonát a jejich směsi.

Další užitečné aktivátory popsané ve výše citovaných US 5,698,504, US 5,695,679 a US 5,686,014 a v US 4,966,723, Hodge et al., vydán 30. října 1990 zahrnují aktivátory benzoxazinového typu např. kruh C_6H_4 , ke kterému je v poloze 1,2 připojena skupina $-C(O)OC(R^1)=N-$.

V závislosti na aktivátoru a dané aplikaci se dobrých bělících výsledků dosahuje s pomocí bělícího systému v rozsahu pH 6 až 13, výhodně 9,0 až 10,5. Např. aktivátory s elektronotahujícími skupinami se používají v okolí neutrálního pH. To se zabezpečuje s použitím alkálií a pufrujících činidel.

Velmi užitečné jsou acyllaktamové aktivátory, popsané ve výše citovaných US 5,698,504, US 5,695,679 a US 5,686,014, zejména acylkaprolaktamy (viz např. WO 94-28102 A) a acylverolaktamy (viz US 5,503,639, Willey et al., vydán 2. dubna 1996, odkaz je zde uveden).

Mechanismy bělení obecně a zejména mechanismus bělení povrchů nejsou zcela prozkoumány. Obecně se však má za to, že bělidlový aktivátor podléhá nukleofilnímu ataku perhydroxidovým aniontem, který se generuje z peroxidu vodíku uvolňujícího se z peroxigenového bělidla, za vzniku peroxokarboxylové kyseliny. Obecně se tato reakce nazývá perhydrolyza.

Při použití aktivátorů se optimálního bělicího působení dosahuje pracími roztoky, jejichž pH je 8,5 až 10,5, výhodně 9,5 až 10,5, což usnadňuje perhydrolyzační reakci. Toto pH se dosahuje sloučeninami obecně označovanými jako pufrující činidla, která jsou obsažena v bělicích systémech podle předkládaného vynálezu.

(ii) Peroxigenové bělicí sloučeniny. Peroxigenové bělicí systémy užitečné v předkládaném vynálezu jsou schopné dodávat ve vodném prostředí peroxid vodíku. Tyto sloučeniny jsou v oboru dobře známé a zahrnují peroxid vodíku a peroxidy alkalických kovů, organické peroxigenové bělicí sloučeniny jako peroxid močoviny a anorganické bělicí sloučeniny obsahující peroxosole jako peroxoboritany alkalických kovů, peroxouhličitany, peroxofosfosfáty a tak podobně. Použitelné jsou i směsi dvou a více bělicích sloučenin.

Zdroje peroxidu vodíku se detailně popisují v Kirk Othmers Encyclopedia of Chemical Technology, 4th Ed (1992, John Wiley & Sons), Vol. 4, pp 271-300 „Bleaching Agents(Survey)“ a zahrnují různé formy peroxoboritanu sodného a peroxouhličitanu sodného včetně různých modifikovaných forem.

Výhodné peroxigenové bělicí sloučeniny zahrnují peroxoboritan sodný, komerčně dostupný jako mono-, tri- a tetrahydrát, peroxohydrát pyrofosfátu sodného, peroxohydrát močoviny, peroxouhličitan sodný a peroxid sodný. Zvláště výhodné jsou tetrahydrát peroxoboritanu sodného, monohydrát peroxoboritanu sodného a peroxouhličitan sodný. Peroxouhličitan je obzvláště výhodný, protože je velmi stabilní při skladování a přesto se velmi rychle rozpouští v bělicí tekutině. Má se za to, že toto rychlé rozpouštění vede k vysoké hladině peroxokarboxylové kyseliny, a tak ke zlepšení bělicího působení na povrchu.

Velmi výhodné peroxouhličitany jsou ve formě obalené nebo neobalené. Průměrná velikost částic neobalených peroxouhličitanů je 400 až 1200 mikronů, nejvýhodněji 400 až 600 mikronů. Při použití obalených peroxouhličitanů, výhodné obalovací látky jsou směsi uhličitanu a síranu, křemičitanu, borokřemičitanu nebo mastných karboxylových kyselin.

Peroxigenová bělicí sloučenina představuje minimálně 0,1 %, výhodně 1 až 75 %, výhodněji 3 až 40 %, nejvýhodněji 3 až 25 % hmotnosti bělicího systému nebo bělicího prostředku.

Váhový poměr bělidlového aktivátoru a peroxigenové bělicí sloučeniny v bělicím systému je obvykle 2:1 až 1:5. Výhodný poměr je v rozmezí 1:1 až 1:3.

Molární poměr peroxigenové bělicí sloučeniny (jako AvO) k bělidlovému aktivátoru v předkládaném vynálezu je minimálně 1:1, výhodně nejméně 1,5:1, nejvýhodněji nejméně 2:1, maximálně 20:1, výhodně 10:1, výhodněji 3:1. Bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu obsahují výhodně 0,5 až 20 hmot. %, nejvýhodněji 1 až 10 hmot. % peroxigenové bělicí sloučeniny.

Systémy bělidlový aktivátor / bělicí sloučenina jsou užitečné *per se* jako bělidla. Takové bělicí systémy jsou však zejména užitečné v prostředcích obsahujících různé deterdivní adjunktory jako surfaktanty, plnidla a tak podobně.

Bělidlové katalyzátory. Prostředky podle předkládaného vynálezu mohou dále obsahovat jeden nebo více bělidlových katalyzátorů. Výhodné bělidlové katalyzátory jsou zwitteriontové bělidlové katalyzátory, popsané v U.S. patentech 5,576,282 a 5,817,614 (zejména 3-(3,4-dihydroisochinolinium)propansulfonát. Další bělidlové katalyzátory zahrnují kationtové bělidlové katalyzátory popsané v U.S. patentech 5,360,569, 5,442,066, 5,478,357, 5,370,826, 5,482,515, 5,550,256 a WO 95/13351, WO 95/13352 a WO 95/13353.

Bělicí prostředky. Bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu kromě jedné nebo více proteázových variant výše popsaných a jednoho nebo více bělicích činidel obsahují také jednu nebo více pomocných čistících látek, výhodně kompatibilních s proteázovou variantou (variantami) a bělicím činidlem (činidly). Termín „kompatibilní“ zde znamená, že látky bělicího prostředku nesnižují natolik proteolytickou aktivitu enzymu proteázy, aby proteáza zůstala účinná jak se vyžaduje během použití v běžných situacích. Termín „pomocné čistící látky“ se zde používá pro označení jakékoliv tekutiny, pevné látky nebo plynné látky vybrané pro daný typ bělicího prostředku a formu produktu (např. tekutina, granule, prášek, kostka, pasta, sprej, tableta, gel, pěna), výhodně kompatibilní s proteázovou variantou (variantami) a bělicím činidlem (činidly) použitými v prostředku. Granulární prostředky mohou být v „kompaktní“ formě a tekuté prostředky mohou být v „koncentrované“ formě.

Specifický výběr pomocných čistících látek zohledňuje povrch, předmět nebo tkaninu určenou k čištění a žádanou formu prostředku pro podmínky prováděného čištění (např. užití pracího detergentu). Příklady vhodných pomocných čistících látek zahrnují ale nejsou omezeny na surfaktanty, plnidla, bělidla, bělidlové aktivátory, bělidlové katalyzátory, další enzymy, systémy stabilizující enzymy, chelatační činidla, optické zjasňovače, polymery odstraňující skvrny, činidla přenosu barviv, dispersanty, supresory mydlin, barviva, parfémy,

koloranty, plnivové soli, hydrotropy, fotoaktivátory, fluorescence, kondicionéry na tkaniny, hydrolyzovatelné surfaktanty, konzervační činidla, antioxidanty, činidla proti srážení, činidla proti pomačkání, germicidy, fungicidy, činidla na barevné skvrny, činidla pro ochranu stříbra, činidla proti zmatnění a/nebo činidla antikorozivní, zdroje alkality, solubilizační činidla, nosiče, pomocná činidla při zpracování, pigmenty, činidla pro kontrolu pH, viz U.S. patenty 5,705,464, 5,710,115, 5,698,504, 5,695,679, 5,686,014 a 5,646,101. Příklady specifických látek v bělících prostředcích se detailně popisují následně.

V případě, že pomocné čisticí látky nejsou kompatibilní s proteázovou variantou (variantami) a bělícím činidlem (činidly) použitými v prostředku, pak se mohou použít vhodné způsoby udržení pomocných čisticích látek a proteázové varianty (variant) odděleně (ne v kontaktu) až do doby žádoucího spojení obou komponent. Vhodné způsoby jsou v oboru známy, jako gelkaps, enkapsulace, tablety, fyzická separace atd.

Výhodně se efektivní množství jedné nebo více proteázových variant výše popsanych začlení do prostředku použitelného pro čištění různých povrchů k odstranění proteinových skvrn. Takové bělící prostředky zahrnují detergentní prostředky pro čištění pevných povrchů, bez omezení formy (např. tekutina, granulární pasta, pěna, sprej, atd.); detergentní prostředky pro čištění tkanin bez omezení formy (např. granulární, tekuté, kostkové); prostředky na mytí nádobí (bez omezení formy a zahrnující jak granulární tak tekuté pro automatické mytí nádobí); orální bělící prostředky, bez omezení formy (např. dentifrice, zubní pasta a ústní voda); a bělící prostředky na umělý chrup, bez omezení formy (např. tekutina, tablety).

Bělící prostředky na tkaniny podle předkládaného vynálezu se používají převážně pro prací cykly v automatických pračkách, zamýšlí se však další použití jako pro předprírku silně znečištěných tkanin nebo jako smáčedlo; použití není nutně limitováno na použití v automatických pračkách a prostředky podle předkládaného vynálezu jsou použitelné samostatně nebo ve spojení s kompatibilními prostředky určenými pro ruční praní.

Termín „efektivní množství proteázové varianty“ se zde používá pro označení množství výše popsané proteázové varianty nutného pro dosažení enzymatické aktivity nutné pro specifický bělící prostředek. Tato efektivní množství se zjišťují postupy v oboru známými a založenými na mnoha faktorech, jako použití specifické varianty, čisticí aplikace, specifické složení bělícího prostředku, zda se vyžaduje tekutý nebo suchý (např. granulární, kostkový) prostředek a tak podobně.

Bělicí prostředky výhodně obsahují 0,0001 až 10 % jedné nebo více proteázových variant podle předkládaného vynálezu, výhodněji 0,001 až 1 %, ještě výhodněji 0,001 až 0,1 %. Také výhodně proteázová varianta podle předkládaného vynálezu je v prostředcích přítomna v množství dostatečném k dosažení poměru mg aktivní proteázy na 100 gramů prostředku k ppm teoretického dostupného O_2 („ AvO_2 “) z jakékoliv peroxokyseliny v práci tekutině, zde označovaného jako poměr enzym:bělidlo (E/B poměr) v rozmezí 1:1 až 20:1. Níže se detailně popisuje několik příkladů různých bělicích prostředků s použitím proteázových variant podle předkládaného vynálezu. Bělicí prostředky mohou také obsahovat 1 až 99 hmot. % pomocných čistících látek.

„Bělicí prostředky určené pro čištění jiných povrchů než tkanin“ podle předkládaného vynálezu zahrnují bělicí prostředky pro čištění pevných povrchů, prostředky na mytí nádobí, orální bělicí prostředky, bělicí prostředky na umělý chrup a prostředky osobní očisty.

Bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu formulované jako prostředky vhodné pro automatické praní prádla výhodně obsahují jak surfaktant a plnidlo, tak dále jednu nebo více pomocných čistících látek výhodně ze skupiny obsahující organické polymerní sloučeniny, bělicí činidla, další enzymy, supresory mydlin, dispersanty, lime-mýdlové dispersanty, činidla suspendující skvrny a činidla anti-redepozitní a inhibitory koroze. Prostředky vhodné pro praní prádla také obsahují další pomocné čistící látky jako změkčovadla.

Prostředky podle předkládaného vynálezu jsou také použitelné jako detergentní aditivní produkty v pevné nebo tekuté formě. Takové aditivní produkty mají doplňovat nebo zesilovat působení konvenčních detergentních prostředků a mohou se přidat v jakémkoliv stádiu čistícího procesu.

Prostředky podle předkládaného vynálezu formulované jako prostředky vhodné pro ruční praní výhodně obsahují surfaktant a výhodně další pomocné čistící látky ze skupiny obsahující organické polymerní sloučeniny, činidla podporující tvorbu mydlin, ionty kovů skupiny II, solventy, hydrotropy a další enzymy.

Potřebná hustota zde popsaných detergentních prostředků vhodných pro praní prádla je v rozmezí 400 až 1200 g/l, výhodně 500 až 950 g/l, měřeno při teplotě 20 °C.

„Kompaktní“ forma zde popsaných bělicích prostředků se odráží v hustotě a množství anorganických plnivových solí v prostředku; anorganické plnivé sole jsou konvenční

ingredience detergentních prostředků v práškové formě; v konvenčních detergentních prostředcích jsou anorganické plnivové sole přítomny v podstatném množství, obvykle 17 až 35 % celkové hmotnosti prostředku. U kompaktních prostředků jsou anorganické plnivové sole přítomny v množství nepřesahujícím 15 % celkové hmotnosti prostředku, výhodně méně než 10 % a nejvýhodněji méně než 5 % celkové hmotnosti prostředku. Anorganické plnivové sole v prostředcích podle předkládaného vynálezu se vybírají ze skupiny síranů a chloridů alkalických kovů a kovů alkalických zemin. Výhodná plnivová sůl je síran sodný.

Tekuté bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu vyskytující se v „koncentrované“ formě obsahují ve srovnání s běžnými tekutými detergenty menší množství vody. Obvyklý obsah vody v koncentrovaných tekutých bělicích prostředcích je výhodně menší než 40 %, výhodněji méně než 30 % a nejvýhodněji méně než 20 % celkové hmotnosti bělicího prostředku.

Pomocné čisticí látky

Surfaktantový systém. Obsah deterzivních surfaktantů v plně formulovaných bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu je nejméně 0,01 %, výhodně nejméně 0,1 %, výhodněji nejméně 0,5 %, nejvýhodněji nejméně 1 maximálně 60 %, výhodněji 1 až 35 % a nejvýhodněji 1 až 30 % hmotnosti bělicího prostředku v závislosti na jednotlivých použitých surfaktantech a požadovaném účinku.

Deterzivní surfaktanty jsou neiontové, aniontové, amfolytické, zwitteriontové, kationtové, semipolární neiontové a jejich směsi, jejich nelimitující příklady se popisují v U.S. patentu 5,707,950 a 5,576,282. Výhodné detergenty a bělicí prostředky obsahují aniontové deterzivní surfaktanty nebo směsi aniontových surfaktantů s jinými surfaktanty, zejména s neiontovými surfaktanty.

Nelimitující příklady zde použitých surfaktantů zahrnují běžné C_{11} - C_{18} alkylbenzensulfonáty a primární, sekundární a randomní alkylsíran, C_{10} - C_{18} alkylalkoxysíran, C_{10} - C_{18} alkylpolyglykosidy a jim odpovídající síranpolyglykosidy, C_{12} - C_{18} estery alfa-sulfonovaných mastných kyselin, C_{12} - C_{18} alkyl- a alkylfenolalkoxyláty (zejména ethoxyláty a směsné ethoxy/propoxyderiváty), C_{12} - C_{18} betainy a sulfobetainy (sultainy), C_{10} - C_{18} aminoxidy a tak podobně. Standardní literatura poskytne seznam dalších běžně používaných surfaktantů.

Surfaktant se výhodně formuluje tak, aby byl kompatibilní s enzymovými složkami přítomnými v prostředku. U tekutých nebo gelových prostředků je surfaktant výhodně formulován tak, aby podporoval, nebo alespoň nerušil stabilitu jakéhokoliv enzymu přítomného v těchto prostředcích.

Neiontové surfaktanty. Jako neiontový surfaktant v surfaktantových systémech podle předkládaného vynálezu se používají alkylfenolové kondenzáty polyethylen-, polypropylen- a polybutylenoxidů, výhodné jsou kondenzáty polyethylenoxidu. Komerčně dostupné neiontové surfaktanty tohoto typu zahrnují IgepalTM CO-630 dodávaný GAF Corporation; a TritonTM X-45, X-114, X-100 a X-102 dodávané Rohm & Haas Company. Obecně se tyto surfaktanty označují jako alkylfenolalkoxyláty (např. alkylfenoethoxyláty).

V neiontových surfaktantových systémech podle předkládaného vynálezu se jako neiontové surfaktanty používají kondenzační produkty primárních a sekundárních alifatických alkoholů s 1 až 25 moly ethylenoxidu. Příklady komerčně dostupných neiontových surfaktantů tohoto typu zahrnují TergitolTM 15-S-9 (produkt kondenzace C₁₁-C₁₅ lineárního alkoholu s 9 moly ethylenoxidu), TergitolTM 24-L-6 NMW (produkt kondenzace C₁₂-C₁₄ primárního alkoholu se 6 moly ethylenoxidu s úzkou distribucí molekulové hmotnosti), oba dodávané Union Carbide Corporation; NeodolTM 45-9 (produkt kondenzace C₁₄-C₁₅ lineárního alkoholu s 9 moly ethylenoxidu), NeodolTM 23-3 (produkt kondenzace C₁₂-C₁₃ lineárního alkoholu s 3,0 moly ethylenoxidu), NeodolTM 45-7 (produkt kondenzace C₁₄-C₁₅ lineárního alkoholu se 7 moly ethylenoxidu), NeodolTM 45-5 (produkt kondenzace C₁₄-C₁₅ lineárního alkoholu s 5 moly ethylenoxidu), dodávané Shell Chemical Company, KyroTM EOB (produkt kondenzace C₁₃-C₁₅ alkoholu s 9 moly ethylenoxidu), dodávaný The Procter & Gamble Company, a Genapol LA O3O nebo O5O (produkt kondenzace C₁₂-C₁₄ alkoholu s 3 nebo 5 moly ethylenoxidu) dodávaný Hoechst. Výhodný rozsah HLB u těchto produktů je 8-11 a nejvýhodnější 8-10.

V surfaktantových systémech podle předkládaného vynálezu jsou jako neiontové surfaktant také užitečné alkylpolysacharidy popsané v U.S. patentu 4,565,647.

Výhodné alkylpolyglykosidy mají vzorec: R²O(C_nH_{2n}O)_i(glykosyl)_x, kde R² se vybírá ze skupiny zahrnující alkylovou, alkylfenylovou, hydroxyalkylovou, hydroxyalkylfenylovou skupinu a jejich směsi, kde alkylové skupiny obsahují 10 až 18, výhodně 12 až 14 atomů

uhlíku; n je 2 nebo 3, výhodně 2; t je 0 až 10, výhodně 0; a x je 1,3 až 10, výhodně 1,3 až 3, nejvýhodněji 1,3 až 2,7.

Jako další neiontové surfaktantové systémy podle předkládaného vynálezu jsou také použitelné kondenzační produkty ethylenoxidu a hydrofobní báze vytvořené kondenzací propylenoxidu s propylenglykolem. Příklady sloučenin tohoto typu zahrnují část komerčně dostupných surfaktantů PlurafacTM LF404 a PluronicTM, dodávaných BASF.

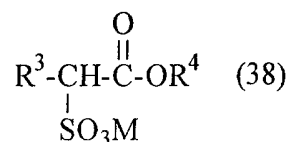
Jako neiontové surfaktanty v neiontovém surfaktantovém systému podle předkládaného vynálezu jsou také použitelné kondenzační produkty ethylenoxidu s konečným produktem reakce propylenoxidu s diethylaminem. Příklady tohoto typu neiontového surfaktantu zahrnují část komerčně dostupných sloučenin TetronicTM, dodávaných BASF.

Výhodné pro použití jako neiontové surfaktanty v surfaktantových systémech podle předkládaného vynálezu jsou kondenzáty polyethylenoxidu s alkylfenoly, kondenzační produkty primárních a sekundárních alifatických alkoholů s 1 až 25 moly ethylenoxidu, alkylpolysacharidy a jejich směsi. Nejvýhodnější jsou C₈-C₁₄ alkylfenoethoxyláty s 3 až 15 ethoxy-skupinami a C₈-C₁₈ alkoholethoxyláty (výhodně C₁₀) s 2 až 10 ethoxy-skupinami a jejich směsi.

Velmi výhodné neiontové surfaktanty jsou amidy polyhydroxymastných kyselin obecného vzorce R²-C(O)-N(R¹)-Z, kde R¹ je H, nebo R¹ je C₁-C₄ uhlovodíková, 2-hydroxyethyllová, 2-hydroxypropylová skupina nebo jejich směs, R² je C₅-C₃₁ uhlovodíková skupina a Z je polyhydroxy uhlovodíková skupina s lineárním uhlovodíkovým řetězcem s nejméně 3 hydroxyly připojenými přímo k řetězci, nebo jejich alkoxylované deriváty. Výhodně je R¹ methylová skupina, R² je přímý C₁₁-C₁₅ alkylový nebo C₁₆-C₁₈ alkylový nebo alkenylový řetězec např. kokosový alkylový nebo jejich směsi, a Z je odvozeno reduktivní aminací od redukujícího cukru jako glukózy, fruktózy, maltózy, laktózy.

Aniontové surfaktanty. Použitelné aniontové surfaktanty jsou lineární alkylbenzensulfonáty, alkylestersulfonátové surfaktanty zahrnující lineární estery C₈-C₂₀ karboxylových kyselin (mastných kyselin), které se sulfonují plynným SO₃ způsobem podle Journal of the American Oil Chemists Society, 52 (1975), pp. 323-329. Vhodné výchozí látky jsou přirozené mastné sloučeniny odvozené od tallového, palmového oleje atd.

Alkylestersulfonové surfaktanty, výhodné zejména pro použití při praní, mají obecný vzorec 38:



kde R^3 je $\text{C}_8\text{-C}_{20}$ uhlovodíková, výhodně alkylová skupina nebo jejich kombinace, R^4 je $\text{C}_1\text{-C}_6$ uhlovodíková, výhodně alkylová skupina nebo jejich kombinace a M je kation vytvářející s alkylestersulfonátem ve vodě rozpustnou sůl. Vhodné solitvorné kationty jsou kovy jako sodík, draslík a lithium a nesubstituované nebo substituované kationty amonné jako monoethanolamin, diethanolamin a triethanolamin. Výhodně je R^3 $\text{C}_{10}\text{-C}_{16}$ alkylová skupina, R^4 je methylová, ethylová nebo isopropylová skupina. Zvláště výhodné jsou methylestersulfonáty kde R^3 je $\text{C}_{10}\text{-C}_{16}$ alkylová skupina.

Další vhodné aniontové surfaktanty zahrnují alkylsíranové surfaktanty, což jsou ve vodě rozpustné soli nebo kyseliny obecného vzorce ROSO_3M , kde R je výhodně $\text{C}_{10}\text{-C}_{24}$ uhlovodíková, výhodně alkylová nebo hydroxyalkylová skupina s $\text{C}_{10}\text{-C}_{20}$ alkylovou komponentou, výhodněji $\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$ alkylová nebo hydroxyalkylová skupina, a M je H nebo kation. Obvykle jsou alkylové $\text{C}_{12}\text{-C}_{16}$ řetězce výhodné pro nižší prací teploty (do 50°C) a $\text{C}_{16}\text{-C}_{18}$ alkylové řetězce jsou výhodné pro vyšší prací teploty (nad 50°C).

Další aniontové surfaktanty použitelné pro deteršivní účely zahrnují soli mýdel, $\text{C}_8\text{-C}_{22}$ primární nebo sekundární alkansulfonáty, $\text{C}_8\text{-C}_{24}$ olefinsulfonáty, sulfonované polykarboxylové kyseliny připravené sulfonací pyrolyzovaných produktů citrátů kovů alkalických zemin, např. jak popisuje britská patentová specifikace 1,082,179, $\text{C}_8\text{-C}_{24}$ alkylpolyglykolethersírany (obsahující až 10 molů ethylenoxidu); alkylglycerolsulfomáty, glycerolsulfonáty mastných acylů, glycerolsulfonáty mastných oleylderivátů, alkylfenoletylenoxidethersírany, parafinsulfonáty, alkylfosfáty, isethionáty, např. acylisethionáty, N-acylauráty, alkylsukcinamáty a sulfosukcináty, monoestery sulfosukcinátů (zejména nasycených a nenasycených $\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$ monoesterů) a diesterů sulfosukcinátů (zejména nasycených a nenasycených $\text{C}_6\text{-C}_{12}$ diesterů), acylsarkosináty, sírany alkylpolysacharidů např. sírany alkylpolyglukosidu (neiontové nesíranové sloučeniny se popisují níže), větvené primární alkylsírany a alkylpolyethoxyuhličitany např. obecného vzorce $\text{RO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_k\text{-CH}_2\text{COO-M}^+$, kde R je $\text{C}_8\text{-C}_{22}$ alkylová skupina, k je celé nezáporné číslo 1 až 10 a M je kation tvořící rozpustnou sůl. Vhodné jsou také pryskyřičné kyseliny a hydrogenované

pryskyřičné kyseliny, např. kalafuna, hydrogenovaná kalafuna a pryskyřičné kyseliny a hydrogenované pryskyřičné kyseliny odvozené od tallového oleje.

Další příklady se popisují v Surface Active Agents and Detergents (Vol. I a II), Schwartz, Perry a Berch). Množství těchto surfaktantů se také obecně popisuje v U.S. Patent 3,929,678, vydaném 30. prosince 1975, Laughlin et al., sloupec 23, řádka 58 až sloupec 29, řádka 23 (zde odkaz zde uveden).

Velmi výhodné aniontové surfaktanty zahrnují alkylalkoxysíranové surfaktanty ve formě ve vodě rozpustné soli nebo kyseliny obecného vzorce $RO(A)_mSO_3M$, kde R je nenasyčená C_{10} - C_{24} alkylová nebo hydroxyalkylová skupina s C_{10} - C_{24} alkylovou složkou, výhodně C_{12} - C_{20} alkylová nebo hydroxyalkylová skupina, výhodněji C_{12} - C_{18} alkylová nebo hydroxyalkylová skupina, A je ethoxy- nebo propoxyskupina, m je větší než 0, obvykle 0,5 až 6, výhodněji 0,5 až 3, a M je H nebo kation, např. kation kovu (sodný, draselný, lithný, vápenatý, hořečnatý atd.), amonný nebo substituovaný amonný kation. Mění se alkylethoxysíranů i alkylpropoxysíranů. Specifické příklady substituovaných amonných kationtů zahrnují methyl-, dimethyl-, trimethylamonné kationty a kvarterní amonné kationty jako tetramethylamonné a dimethylpiperidinové kationty a kationty odvozené od alkylaminů, jako ethylaminu, diethylaminu, triethylaminu, jejich směsi a tak podobně. Příklady surfaktantů jsou C_{12} - C_{18} alkylpolyethoxylát(1,0)síran (C_{12} - $C_{18}E(1,0)M$), C_{12} - C_{18} alkylpolyethoxylát(2,25)síran (C_{12} - $C_{18}E(2,25)M$), C_{12} - C_{18} alkylpolyethoxylát(3,0)síran (C_{12} - $C_{18}E(3,0)M$) a C_{12} - C_{18} alkylpolyethoxylát(4,0)síran (C_{12} - $C_{18}E(4,0)M$), kde M je obvykle sodík nebo draslík.

Obsah aniontových surfaktantů v bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu je obvykle 1 až 40 %, výhodně 3 až 40 %, s výhodou 20 % hmotnosti prostředku.

Kationtové surfaktanty. Kationtové surfaktanty použitelné v bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu mají jednu uhlovodíkovou skupinu s dlouhým řetězcem. Příkladem takových kationtových surfaktantů jsou amonné surfaktanty jako halogenidy alkyltrimethylamonné, a surfaktanty mající obecný vzorec: $[R^2(OR^3)_y][R^4(OR^3)_y]2R^5N^+X^-$, kde R^2 je alkylová nebo alkylbenzylová skupina s 8 až 18 atomy uhlíku v alkylovém řetězci, všechna R^3 patří do skupiny obsahující $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)-$, $-CH_2CH(CH_2OH)-$, $CH_2CH_2CH_2-$, a jejich směsi; všechna R^4 patří do skupiny obsahující C_1 - C_4 alkylovou, C_1 - C_4 hydroxyalkylovou skupinu, benzylový kruh vytvořený spojením dvou R^4 skupin, $-CH_2CHOH$,

$\text{CHOHCOR}^6\text{CHOHCH}_2\text{OH}$, kde R^6 je libovolná hexóza nebo hexózový polymer s molekulovou hmotností nižší než 1 000, a vodík, když y není rovno 0; R^5 je shodný s R^4 , nebo je to alkylový řetězec, kde celkový počet atomů uhlíku R^2 plus R^5 není větší než 18; všechna y jsou 0 až 10, součet hodnot y je 0 až 15; a X je libovolný kompatibilní anion.

Velmi výhodné kationtové surfaktanty jsou vodou rozpustné kvarterní amonné sloučeniny užitečné v předkládaných prostředcích mající obecný vzorec (i): $\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{R}_4\text{N}^+\text{X}^-$, kde R_1 je C_8 - C_{16} alkylová skupina, R_2 , R_3 , R_4 , jsou každý nezávisle C_1 - C_4 alkylová skupina, C_1 - C_4 hydroxyalkylová skupina, benzylová skupina, a $-(\text{C}_2\text{H}_4)_x\text{H}$, kde x je rovno 2 až 5 a X je anion. Pouze jeden ze R_2 , R_3 nebo R_4 je benzylová skupina. Výhodná délka alkylového řetězce pro R_1 je C_{12} - C_{15} , zejména když je alkylová skupina směsí s různou délkou řetězců odvozenou od kokosového nebo palmového mandlového tuku nebo je odvozena synteticky výstavbou olefinu nebo OXO syntézou alkoholů. Výhodné skupiny R_2 , R_3 a R_4 jsou methylová a hydroxyethyllová skupina a anion X je halidový, methosíranový, octanový a fosfátový ion.

Nelimitující příklady použitelných kvarterních amonných sloučenin obecného vzorce (i) jsou: kokosový chlorid nebo bromid trimethylamonný, kokosový chlorid nebo bromid methyldihydroxyethylamonný; chlorid decyltriethylamonný; chlorid nebo bromid decyldimethylhydroxyethylamonný; chlorid nebo bromid C_{12} - C_{15} dimethylhydroxyethylamonný; kokosový chlorid nebo bromid dimethylhydroxyethylamonný; myristyltrimethylamonný methylsíran; chlorid nebo bromid lauryldimethylbenzylamonný; chlorid nebo bromid lauryldimethyl(ethenoxy)₄amonný; estery cholinu (sloučeniny obecného vzorce (i), kde R_1 je $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-C(O)-C}_{12}\text{-C}_{14}$ alkylová skupina a $\text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4$ jsou methylové skupina; a dialkylimidazolinu (i).

Další užitečné surfaktanty se také popisují v U.S. patentu 4,228,044, Cambre, vydaném 14. října 1980 a v evropské patentové přihlášce EP 000,224.

Obsah kationtových surfaktantů v bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu je typicky nejméně 0,2 %, s výhodou 1 až 25 %, výhodně maximálně 8 % hmotnosti prostředku

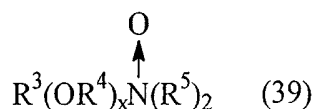
Amfolytické surfaktanty. V bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou také užitečné amfolytické surfaktanty, jejich příklady se uvádí v U.S. patentu 3,929,678.

Obsah amfolytických surfaktantů v bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu je typicky nejméně 0,2 %, s výhodou 1 až 15 %, výhodně maximálně 10 % hmotnosti prostředku.

Zwitteriontové surfaktanty. V bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou také užitečné zwitteriontové surfaktanty, jejich příklady se uvádí v U.S. patentu 3,929,678.

Obsah zwitteriontových surfaktantů v bělicích prostředcích podle předkládaného vynálezu je typicky nejméně 0,2 %, s výhodou 1 až 15 %, výhodně maximálně 10 % hmotnosti prostředku.

Semipolární neiontové surfaktanty. Semipolární neiontové surfaktanty jsou speciální kategorií neiontových surfaktantů, která zahrnuje vodou rozpustné aminoxidy obecného vzorce 39:



kde R^3 je alkylová, hydroxyalkylová nebo alkylfenolová skupina nebo jejich směs obsahující 8-22 atomů uhlíku; R^4 je alkylenová nebo hydroxyalkylenová skupina obsahující 2 až 3 atomy uhlíku nebo jejich směsi; x je 0 až 3; R^5 je alkylová nebo hydroxyalkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo polyethylenoxidová skupina obsahující 1 až 3 ethylenoxidové skupiny (R^5 skupiny se mohou propojit, např. prostřednictvím atomu kyslíku nebo dusíku a vytvořit kruhovou strukturu); ve vodě rozpustné fosfinoxidy obsahující jednu alkylovou skupinu s 10 až 18 atomy uhlíku a 2 skupiny skládající se z alkylových a hydroxyalkylových skupin obsahujících 1 až 3 atomy uhlíku; a ve vodě rozpustné sulfoxidy obsahující jednu alkylovou skupinu s 10 až 18 atomy uhlíku a skupinu skládající se z alkylových a hydroxyalkylových skupin s 1 až 3 atomy uhlíku.

Aminoxidové surfaktanty zahrnují zejména C_{10} - C_{18} alkyl dimethylaminoxidy a C_8 - C_{12} alkoxyethyl dihydroxyethylaminoxidy.

Obsah semipolárních neiontových surfaktantů v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu je nejméně 0,2 %, s výhodou 1 až 15 %, výhodně maximálně 10 % hmotnosti prostředku.

Kosurfaktanty. Bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu obsahují dále kosurfaktant ze skupiny primárních nebo terciárních aminů. Použitelné primární aminy mají obecný vzorec R_1NH_2 , kde R_1 je C_6 - C_{12} , výhodně C_6 - C_{10} alkylový řetězec nebo $\text{R}_4\text{X}(\text{CH}_2)_n$,

kde X je -O-, -C(O)NH nebo -NH-, R_4 je C_6 - C_{12} alkylový řetězec a n je 1 až 5, výhodně 3. R_1 alkylové řetězce jsou přímé nebo větvené a mohou být přerušované maximálně 12, výhodně méně než 5 ethylenoxidovými skupinami.

Výhodné aminy podle výše uvedeného vzorce jsou n-alkylaminy. Použitelné aminy jsou 1-hexylamin, 1-oktylamin, 1-decylamin a laurylamin. Další výhodné primární aminy jsou C_8 - C_{10} oxypropylamin, oktyloxypylamin, 2-ethylhexyl-oxypropylamin, laurylamidopropylamin a amidopropylamin. Nejvýhodnější aminy v prostředcích jsou 1-hexylamin, 1-oktylamin, 1-decylamin, 1-dodecylamin. Zvláště žádané jsou n-dodecyldimethylamin a bishydroxyethylalkylamin kokosový a oleylamin se sedminásobnou ethoxylací, laurylamidopropylamin a kokosový amidopropylamin.

LFNIs. Zvláště výhodné surfaktanty pro použití v předkládaných prostředcích do myček na nádobí (ADD) jsou neiontové surfaktanty se sníženou pěnivostí (LFNI), popsané v U.S. patentech 5,705,464 a 5,710,115. LFNI se vyskytují v množství 0,01 až 10 % hmotnosti, výhodně 0,1 až 10 % a nejvýhodněji 0,25 až 4 %. LFNIs se typicky používají v ADD ke zlepšení účinku waretové fólie (zejména na skle). Také se zahrnují nesilikonové, nefosfátové polymerní látky dále popisované, které odpěňují skvrny od jídel vyskytující se při automatickém mytí nádobí.

Výhodné LFNIs zahrnují neiontové alkoxylované surfaktanty, zvláště ethoxyláty odvozené od primárních alkoholů a jejich směsi se sofistikovanějšími surfaktanty, jako polyoxypropylen/polyoxyethylen/polyoxypropylen (PO/EO/PO) reversní blokové polymery popsané v U.S. patentech 5,705,464 a 5,710,115.

Použitelné LFNIs jsou také POLY-TERGENT®SLF-18 neiontové surfaktanty dodávané Olin Corp. a jakýkoliv biodegradabilní LFNI jehož teplota tání má výše uvedené vlastnosti.

Tyto a další neiontové surfaktanty jsou v oboru dobře známé, detailně se popisují v Kirk Othmer's Encyclopedia of Chemical Technology, 3th Ed, Vol. 22, pp 360-379 „Surfactants and Detergent Systems“, odkaz je zde uveden.

Bělící činidla. Prostředky podle předkládaného vynálezu případně obsahují kromě výše uvedeného bělicího systému další bělicí činidla, jako bělicí činidla na bázi chloru (což je však u prostředků obsahujících enzymy méně výhodné) příklady jsou v oboru dobře známy, např. dichlorisokyanurát sodný (NaDCC) a bělidlové katalyzátory. Tato další přítomná bělicí činidla

jsou přítomna typicky v množství 1 %, výhodně 5 % až 30 %, výhodně až 20 % celkové hmotnosti prostředku.

(a) Organické peroxidy, zejména diacylperoxidy. Obširný přehled podává Kirk Othmer's Encyclopedia of Chemical Technology, Vol. 17 John Wiley & Sons, 1982, pp 27-90, zejména pp 63-72, odkaz je zde uveden. V případě použití diacylperoxidu je výhodný ten, který má minimální vliv na vznik skvrn/povlaku.

(b) Bělidlové katalyzátory obsahující kov. Prostředky a způsoby podle předkládaného vynálezu mohou využít bělidlové katalyzátory obsahující kov, které se efektivně používají v bělicích prostředcích. Výhodné jsou bělidlové katalyzátory obsahující mangan a kobalt.

Jeden typ bělidlového katalyzátoru obsahujícího kov je katalytický systém obsahující kation přechodného kovu s definovanou katalytickou bělicí aktivitou, jako jsou kationty mědi, železa, titanu, ruthenia, wolframu, molybdenu nebo manganu, pomocné kationty kovů s malou nebo žádnou katalytickou bělicí aktivitou jako jsou kationty zinku nebo hliníku a sekvistory s definovanými konstantami stability pro kationty katalytické a pomocné, zejména ethylendiamintetraoctovou kyselinu, ethylendiamintetramethylenfosfonovou kyselinu a jejich ve vodě rozpustné sole. Takové katalyzátory se popisují v US 4,430,243, Bragg, vydán 2. února 1982.

Komplexy manganu. Prostředky zde uváděné se mohou katalyzovat sloučeninami obsahujícími mangan. Tyto sloučeniny a jejich množství jsou v oboru dobře známé a zahrnují např. katalyzátory na bázi manganu popsané v U.S. patentech 5,576,282; 5,246,621; 5,244,594; 5,194,416 a 5,114,606 a v evropských patentových přihláškách pub. 549,271 A1, 549,272 A1, 544,440 A2 a 544,490 A1. Výhodné příklady těchto katalyzátorů zahrnují $\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{u-O})_3(1,4,7\text{-trimethyl-1,4,7-triazacyklononan})_2(\text{PF}_6)_2$, $\text{Mn}^{\text{III}}_2(\text{u-O})_1(\text{u-OAc})_2(1,4,7\text{-trimethyl-1,4,7-triazacyklononan})_2(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{u-O})_6(1,4,7\text{-triazacyklononan})_4(\text{ClO}_4)_4$, $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}_4(\text{u-O})_1(\text{u-OAc})_2(1,4,7\text{-trimethyl-1,4,7-triazacyklononan})_2(\text{ClO}_4)_3$, $\text{Mn}^{\text{IV}}(1,4,7\text{-trimethyl-1,4,7-triazacyklononan})(\text{OCH}_3)_3(\text{PF}_6)$ a jejich směsi. Další bělidlové katalyzátory na bázi kovu se popisují v U.S. patentech 4,430,243 a US 5,114,611. Použití manganu s různými komplexními ligandy vedoucí ke zlepšení bělení se také popisuje v U.S. patentech 4,728,455; 5,284,944; 5,246,612; 5,256,779; 5,280,117; 5,274,147; 5,153,161 a 5,227,084.

Komplexy kobaltu. Kobaltové bělidlové katalyzátory zde používané jsou známé a popisují se např. v U.S. patentech 5,597,936; 5,595,967 a 5,703,030 a M.L. Tobe, „Base

Hydrolysis of Transition-Metal Complexes“, Adv. Inorg. Bioinorg. Mech. (1983), 2, pp 1-94. Nejvýhodnější zde používaný kobaltový katalyzátor jsou sole pentaaminoctanu vzorce $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}]\text{T}_y$, kde “OAc” znamená octanovou skupinu a “T_y” je anion, zejména kobalt-pentaaminoctanchlorid $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}]\text{Cl}_2$ a $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{OAc})_2$, $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{PF}_6)_2$, $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{SO}_4)$, $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{BF}_4)_2$ a $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{NO}_3)_2$ (zde “PAC”).

Tyto kobaltové katalyzátory se připravují známými způsoby, popsány např. v U.S. patentech 5,597,936; 5,595,967 a 5,703,030 a v článku Tobeho a tam citovaných odkazech, a v US Patent 4,810,410; J.Chem. Ed. (1989), 66,(12), 1043-45; The Synthesis and Characterization of Inorganic Compounds, W.L.Jolly (Prentice-Hall; 1970), pp. 461-3; Inorg. Chem., 18, 1497-1502 (1979); Inorg. Chem. 21, 2881-2885 (1982); Inorg. Chem. 18, 2023-2025 (1979); Inorg. Synthesis, 173-176 (1960) a Journal of Physical Chemistry 56, 22-25 (1952).

Komplexy přechodných kovů s makropolycyklickými rigidními ligandy. Prostředky zde popisované mohou vhodně obsahovat jako katalyzátor bělení komplexy přechodných kovů s makropolycyklickými rigidními ligandy. Termín “makropolycyklicki rigidní ligand” se někdy v níže uváděné diskusi zkracuje jako “MRL”. Použité množství je množství katalyticky efektivní, vhodně 1 ppb a více, např. až 99,9 %, typicky 0,001 ppm nebo více, výhodně 0,05 až 500 ppm (ppb znamená “parts per billion” hmotnosti a ppm znamená “parts per million” hmotnosti).

Vhodné přechodné kovy se uvádějí níže, např. Mn. “Makropolycyklický” znamená, že MRL je zároveň makrocyclus a je polycyklický. “Polycyklický” znamená alespoň bicyklický. Termín “rigidní” zde zahrnuje “mající superstrukturu” a “přemostěný”. “Rigidní” se definuje jako vynucená konverze flexibility, viz. D.H. Busch, Chemical Reviews (1993), 93, 847-860, odkaz je zde uveden. Termín “rigidní” zde znamená zejména to, že MRL musí být určitě rigidnější než makrocyclus (“parent makrocyclus”), který je jinak identický (má stejnou velikost kruhu a typ a počet atomů v hlavním kruhu) avšak postrádající superstrukturu (zejména spojovací skupiny nebo výhodně přemostovací skupiny) nacházenou u MRL. Při určování komparativní rigidity makrocyclů s a bez superstruktury se používá volná forma (bez navázaného kovu) makrocyclů. O rigiditě je dobře známo, že je použitelná při porovnávání makrocyclů; vhodné nástroje pro určení, měření nebo porovnání rigidity zahrnují počítačové

metody (viz např. Zimmer, Chemical Reviews, 1995, 95 (38), 2629-2648 nebo Hancock et al., Inorganica Chimica Acta 1989, 164, 73-84.

Výhodné MRL podle předkládaného vynálezu jsou ultrarigidní ligandy speciálního typu, které jsou přemostěné. "Přemostění" se uvádí níže v 1.11. V 1.11 je přemostěním – CH_2CH_2 - skupina. V ilustrativní struktuře vede mezi N^1 a N^8 . Při srovnání, most "na stejné straně" např. zavedený mezi N^1 a N^{12} v 1.11 nebude dostačující k vytvoření "přemostění", a proto není výhodný.

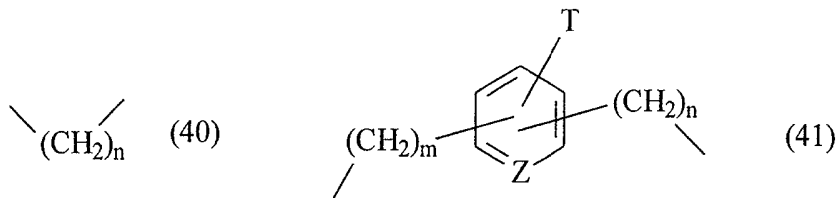
Vhodné kovy v rigidních ligandových komplexech zahrnují Mn(II), Mn(III), Mn(IV), Mn(V), Fe(II), Fe(III), Fe(IV), Co(I), Co(II), Co(III), Ni(I), Ni(II), Ni(III), Cu(I), Cu(II), Cu(III), Cr(II), Cr(III), Cr(IV), Cr(V), Cr(VI), V(III), V(IV), V(V), Mo(IV), Mo(V), Mo(VI), W(IV), W(V), W(VI), Pd(II), Ru(II), Ru(III) a Ru(IV). Výhodné přechodné kovy v instantních katalyzátorech bělení s přechodnými kovy zahrnují mangan, železo a chrom.

Obecněji MRL (a odpovídající katalyzátory s přechodnými kovy) výhodně obsahují:

- (a) nejméně jeden makrocyclický hlavní kruh obsahující čtyři a více heteroatomů
- (b) kovalentně vázanou nekovovou superstrukturu schopnou navýšení rigidity makrocyku výhodně vybranou ze skupiny:
 - (i) můstkové superstruktury např. spojovací skupiny;
 - (ii) přemostění superstruktury, např. přemost'ovací spojovací skupina
 - (iii) a jejich kombinace.

Termín „superstruktura“ se zde používá podle definice z literatury, Busch et al., např. v Chemical Reviews.

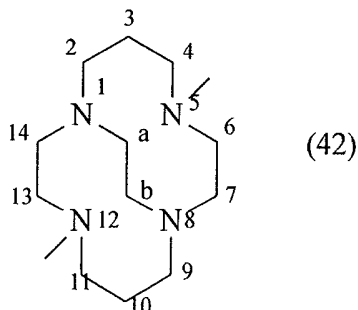
Výhodné superstruktury zde nejen zvyšují rigiditu mateřských makrocyců, ale také usnadňují skládání makrocyku při koordinaci ke kovu v rozštěpu. Vhodné superstruktury jsou pozoruhodně jednoduché, použitelná je např. spojovací skupina obecného vzorce 40 a 41:



Kde n je celé nezáporné číslo, např. 2 až 8, výhodně menší než 6, typicky 2 až 4 nebo kde m a n jsou celá nezáporná čísla 1 až 8, výhodněji 1 až 3; Z je N nebo CH; a T je kompatibilní substituent, např. H, alkylová skupina, trialkylamonný kation, halogen,

nitroskupina, sulfonát a tak podobně. Aromatický kruh v 1.10 se může nahradit kruhem nasyceným, kde atom Z spojující kruh je N, O, S nebo C.

Vhodné MRL dále bez omezení ilustruje sloučenina obecného vzorce 42:



To je MRL podle vynálezu velmi výhodný, přemostěný, methylsubstituovaný (všechny atomy dusíku jsou terciární) derivát cyklamů. Formálně se tento ligand podle rozšířeného systému von Baeyera nazývá 5,12-dimethyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekan. Viz A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds: Recommendations 1993, R. Panico, W.H.Powel, J-C Richer (Eds.), Blackwell Scientific Publications, Boston, 1993; viz sekce R-2.4.2.1.

Bělidlové katalyzátory s přechodnými kovy s makropolycyklickými rigidními ligandy použitelné v prostředcích podle předkládaného vynálezu mohou obecně obsahovat známé sloučeniny, pokud tyto odpovídají zde uvedené definici, nebo výhodněji, kteroukoliv z velkého množství nových sloučenin navržených pro použití při praní nebo čištění a ilustrovaných následujícími nelimitujícími příklady:

dichlor-5,12-dimethyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekan manganu (II)

hexafluorofosfát diaquo-5,12-dimethyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekanu manganu (II)

hexafluorofosfát aquo-hydroxy-5,12-dimethyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekanu manganu (II)

tetrafluorboritan diaquo-5,12-dimethyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekanu manganu (II)

hexafluorofosfát dichlor-5,12-dimethyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekanu manganu (III)

dichlor-5,12-di-n-butyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekan manganu (II)

dichlor-5,12-dibenzyl-1,5,8,12-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan manganu (II)
 dichlor-5-n-butyl-12-methyl-1,5,8,12-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan manganu (II)
 dichlor-5-n-oktyl-12-methyl-1,5,8,12-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan manganu (II)
 dichlor-5-n-butyl-12-methyl-1,5,8,12-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan manganu (II).

Prakticky a bez omezení na, prostředky a způsoby čištění podle předkládaného vynálezu mohou být upraveny tak, aby poskytovaly alespoň 0,01 ppm aktivní složky bělidlového katalyzátoru ve vodném pracím médiu, výhodně pak poskytují 0,01 až 25 ppm, výhodněji 0,05 až 10 ppm a nejvýhodněji 0,1 až 5 ppm složky bělidlového katalyzátoru v prací tekutině. K dosažení této úrovně v prací tekutině při praní v automatické pračce, je obsah bělidlového katalyzátoru v prostředcích podle předkládaného vynálezu, zejména katalyzátorů obsahujících mangan nebo kobalt, je 0,0005 až 0,2 % hmotnosti bělicích prostředků, výhodněji 0,004 až 0,08 %.

(d) Další bělidlové katalyzátory. Prostředky podle předkládaného vynálezu mohou obsahovat jeden nebo více dalších bělidlových katalyzátorů. Výhodné bělidlové katalyzátory jsou zwitteriontové bělidlové katalyzátory, popsané v U.S. patentu 5,576,282 (zejména 3-(3,4-dihydroisochinolin)propansulfonát). Další bělidlové katalyzátory zahrnují kationtové bělidlové katalyzátory, popsané v U.S. patentech 5,360,569, 5,442,066, 5,478,357, 5,370,826, 5,482,515, 5,550,256 a WO 95/13351, WO 95/13352 a WO 95/13353.

Výhodné deterzivní enzymy. Detergentní a bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu mohou výhodně obsahovat jeden nebo více typů detergentních enzymů. Tyto enzymy zahrnují další proteázy, amylázy, celulázy a lipázy. Tyto látky jsou v oboru známé a komerčně dostupné pod obchodními značkami. Do nevodných tekutých detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu se začleňují ve formě suspenzí, „marumů“ nebo „prilů“. Další vhodný typ enzymu zahrnuje enzymy ve formě „slurries“ enzymů v neiontových surfaktaktech, např. enzymy dodávané Novo Nordisk pod obchodní značkou „SL“ nebo enzymy v mikrokapslích dodávané Novo Nordisk pod obchodní značkou „LDP“. Vhodné enzymy a použité koncentrace se popisují v U.S. patentu 5,576,282, 5,705,464 a 5,710,115.

Zejména výhodné použití v prostředcích podle předkládaného vynálezu mají konvenční enzymové prilý. Velikost těchto prilů je obecně v rozmezí 100 až 1000 mikronů, výhodněji 200 až 800 mikronů, prilý se suspendují v nevodné tekuté fázi prostředku. Ukázalo se, že prilý v prostředcích podle předkládaného vynálezu mají ve srovnání s jinými formami

enzymů velmi žádoucí enzymatickou stabilitu při zachování enzymatické aktivity během doby. Prostředky využívající enzymové prily nemusí obsahovat konvenční stabilizaci enzymů, která se hojně využívá při začlenění enzymů do vodných tekutých detergentů.

Enzymy přidávané do prostředků podle předkládaného vynálezu mohou být ve formě granulátů, výhodně T-granulátů.

„Detersivní enzymy“ zde označují libovolný enzym s čistícím, skvrny odstraňujícím nebo jinak výhodným účinkem v detergentním prostředku určeném k praní, čištění pevných povrchů nebo osobní očištění. Výhodné detersivní enzymy jsou hydrolázy jako proteázy, amylázy a lipázy. Výhodné enzymy pro praní zahrnují ale nejsou omezeny na proteázy, celulózy, lipázy a peroxidázy. Velmi výhodné pro automatické myčky nádobí jsou amylázy a/nebo proteázy, včetně obou právě komerčně dostupných typů a vylepšených typů, které navzdory stále větší kompatibilitě bělení a postupným zlepšením stále mají přetrvávající schopnost deaktivovat bělení.

Příklady vhodných enzymů zahrnují ale nejsou omezeny na hemicelulózy, peroxidázy, proteázy, celulózy, xylanázy, lipázy, fosfolipázy, esterázy, kutinázy, pektinázy, keratanázy, reduktázy, oxidázy, fenoloxidázy, lipoxygenázy, ligninázy, pululanázy, tanázy, pektosanázy, malanázy, β -glukanázy, arabinosidázy, hyaluronidázy, chondroitinázy, lakázy a známé amylázy nebo jejich směsi.

Příklady vhodných enzymů se uvádějí v U.S. patentech 5,705,464, 5,710,115, 5,576,282, 5,278,671 a 5,707,950.

Celulózy užitečné v předkládaném vynálezu zahrnují jak bakteriální tak fungální celulózy. Výhodně je pH 5 až 12 a specifická aktivita nad 50 CEVU/mg (CEVU jednotka viskozity celulózy). Vhodné celulózy se popisují v US Patent 4,435,307, J61078384 a WO 96/02653, který zveřejňuje fungální celulózy produkované *Humicola insolens*, *Trichoderma*, *Thielavia* a *Sporotrichum*. EP 739 982 popisuje celulózy izolované z nového druhu *Bacillus*. Vhodné celulózy se popisují také v GB-A-2.075.028, GB-A-2.095.275, DE-OS-2.247.832 a WO 95/26398.

Příklady takových celuláz jsou celulózy produkované kmenem *Humicola insolens* (*Humicola grisea* var. *thermoidea*), zejména kmenem *Humicola* DSM 1800. Další vhodné celulózy jsou celulózy původem z *Humicola insolens*, s molekulovou hmotností 50 kDa, isoelektrickým bodem 5,5 a obsahující 415 aminokyselin; a -43 kD endoglukanáza odvozená

z *Humicola insolens* DSM 1800 s celulázovou aktivitou; výhodná složka endoglukanázy má aminokyselinovou sekvenci popsanou ve WO 91/17243. Také vhodné celulázy jsou celulázy EGIII z *Trichoderma longibrachiatum* popsané ve WO 94/21801, Genencor. Zejména užitečné celulázy jsou celulázy výhodně pečující o barvy. Příklady takových celuláz se uvádějí v evropské patentové přihlášce 91202879.2, 6. listopad 1991 (Novo). Zejména užitečné jsou Carezym a Celluzym (Novo Nordisk A/S). Viz též WO 91/17244 a WO 91/21801. Další vhodné celulázy pro péči o tkaniny a/nebo čištění se popisují ve WO 96/34092, WO 96/17994 a WO 95/24471.

Pokud jsou celulázy v čistících prostředcích přítomné, pak je koncentrace čistého enzymu 0,0001 až 2 % hmotnosti čistícího prostředku.

Peroxidázové enzymy se používají v kombinaci se zdroji kyslíku, např. peroxouhličitany, peroxoboritany, peroxosíraný, peroxidem vodíku atd. a s fenolovým substrátem jako molekulou podporující bělení. Používají se pro „bělení v roztoku“, k zamezení transferu barviv nebo pigmentů odstraněných ze substrátů během praní na jiné substráty v pracím roztoku. Peroxidázové enzymy jsou v oboru známé a zahrnují např. křenovou peroxidázu, ligninázu a haloperoxidázu jako chlor- a bromperoxidázu. Vhodné peroxidázy a detergentní prostředky obsahující peroxidázu se zveřejňují např. v U.S. patentech 5,705,464, 5,710,115, 5,576,282, 5,728,671 a 5,707,950, PCT mezinárodních přihláškách WO 89/099813, WO 89/09813 a v evropských patentových přihláškách EP 91202882.6, 6. listopad 1991 a EP 96870013.8, 20. únor 1996. Vhodný je také lakázový enzym.

Činidla zesilující účinek obecně představují 0,1 až 5 % celkové hmotnosti prostředku. Výhodná činidla zesilující účinek jsou substituovaný fenthiazin a fenoxazin-10-fenothiazinpropionová kyselina (PPT), 10-ethylfenothiazin-4-karboxylová kyselina (EPC), 10-fenoxazinpropionová kyselina (POP) a 10-methylfenoxazin (popsaný ve WO 94/12261) a substituované syringáty (C_3 - C_5 substituované alkylsyringáty) a fenoly. Výhodné zdroje peroxidu vodíku jsou peroxouhličitan sodný a peroxoboritan sodný.

Obsah peroxidáz v čistících prostředcích odpovídá koncentraci čistého enzymu 0,0001 až 2 % hmotnosti čistícího prostředku.

Jako bělicí činidla se používají enzymatické systémy. Peroxid vodíku se získává také přidáním enzymatického systému (enzym a jeho substrát) schopného generovat peroxid

vodíku na začátku a během praní a/nebo proplachování. Tyto enzymatické systémy se popisují v patentové přihlášce EP 91202655, 6. říjen 1991.

Další výhodné enzymy začleněné do čistících prostředků podle předkládaného vynálezu jsou lipázy. Vhodné lipázové enzymy pro detergentní použití jsou např. produkovány mikroorganismy *Pseudomonas* skupiny, jako *Pseudomonas stutzeri* ATCC 19.154, popsané v British Patent 1,372,034. Vhodné lipázy vykazují pozitivní křížovou imunologickou reakci s protilátkou lipázy, produkovanou mikroorganismem *Pseudomonas fluorescent* IAM 1057. Tuto lipázu dodává Amano Pharmaceutical Co. Ltd., Nagoya, Japonsko pod obchodní značkou Lipase P „Amano“, zde nazývaná „Amano-P“. Další vhodné komerční lipázy jsou Amano-CES, lipázy ex *Chromobacter viscosum*, *Chromobacter viscosum* var. *lipolyticum* NRRLB 3673 dodávané Toyo Jozo Co., Tagata, Japonsko; lipázy *Chromobacter viscosum* dodávané U.S. Biochemical Corp., USA a Disoynt Co., Holandsko a lipázy ex *Pseudomonas gladioli*. Zejména vhodné lipázy jsou M1 Lipase^R a Lipomax^R (Gist-Brocades) a Lipolase^R a Lipolase Ultra^R (Novo), které se ukázaly být velmi účinné při použití v kombinaci s prostředky podle předkládaného vynálezu. Vhodné lipolytické enzymy se také popisují v EP 258 068, WO 92/05249 a WO 95/22615, Novo Nordisk, a WO 94/03578, WO 95/35381 a WO 96/00292, Unilever.

Vhodné jsou také kutinázy [EC 3.1.1.50], které se považují za speciální druh lipázy, přesněji lipázy nevyžadující interfaciální aktivaci. Přidání kutináz do čistících prostředků se popisuje např. ve WO-A-88/09367 (Genencor), WO 90/09446 (Plant Genetic System) a WO 94/14963 a WO 94/14964 (Unilever).

Obsah lipáz a/nebo kutináz přítomných v čistících prostředcích odpovídá koncentraci čistého enzymu 0,0001 až 2 % hmotnosti čistícího prostředku.

Kromě výše uvedených lipáz mohou čistící prostředky podle předkládaného vynálezu obsahovat fosfolipázy. Nelimitující příklady vhodných fosfolipáz zahrnují EC 3.1.1.32 fosfolipázu A1, EC 3.1.1.4 fosfolipázu A2, EC 3.1.1.5 lysofosfolipázu, EC 3.1.4.3 fosfolipázu C, EC 3.1.4.4 fosfolipázu D. Komerčně dostupné fosfolipázy jsou LECITASE® (Novo Nordisk A/S, Dánsko) a Phospholipase A2 (Sigma). V případě začlenění fosfolipáz do prostředků podle předkládaného vynálezu je výhodné použít také amylázy. Má se za to, že kombinované působení fosfolipázy a amylázy vede k podstatnému odstranění skvrn, zejména mastných/olejových, škrobových a výrazně zbarvených skvrn a nečistot.

Výhodný poměr fosfolipázy a amylázy v prostředcích podle předkládaného vynálezu odpovídá poměru hmotnosti čistého enzymu v rozmezí 4500:1 až 1:5, výhodněji 50:1 až 1:1.

Vhodné proteázy jsou subtilisiny, získané ze speciálního kmene *B. subtilis* a *B. licheniformis* (subtilisin BPN a BPN'). Jedna vhodná proteáza se získá z kmene *Bacillus* s maximální aktivitou při pH 8-12, vyvinutá a dodávaná pod názvem ESPERASE® (Novo Industries A/S, Dánsko, zde „Novo“). Příprava tohoto enzymu a analogických enzymů se popisuje v GB 1,243,784 (Novo). Proteolytické enzymy také zahrnují modifikované bakteriální serinproteázy, posané např. v evropské patentové přihlášce 87 303761.8, 8. duben 1987 (zejména str. 17, 24 a 98), zde nazývaná „Proteáza B“ a v evropské patentové přihlášce 199,404, Venegas, 29. říjen 1986, týkající se modifikovaného bakteriálního serinproteolytického enzymu, zde nazývaného „Proteáza A“. Vhodná je proteáza zde nazývaná „Proteáza C“, která je variantou alkalické serinproteázy z *Bacillus*, kde lysin nahradil arginin v poloze 27, v poloze 104 tyrosin nahradil valin, v poloze 123 serin nahradil asparagin a v poloze 274 alanin nahradil threonin. Proteáza C se popisuje v EP 90915958:4, odpovídající WO 91/06637, 16. květen 1991. Také jsou zde zahrnuty geneticky modifikované varianty, zejména varianty Proteázy C.

Výhodná proteáza označovaná jako „Proteáza D“ je karbonylhydroláza popsaná v U.S. patentu 5,677,272 a WO 95/10591. Také vhodná je karbonylhydrolázová varianta proteázy popsaná ve WO 10591, její aminokyselinová sekvence se odvozuje nahrazením množství aminokyselinových zbytků v prekursorovém enzymu v poloze +210 ve spojení s jedním nebo více následujícími zbytky: +33, +62, +67, +76, +100, +101, +103, +104, +107, +128, +129, +130, +132, +135, +156, +158, +164, +166, +167, +170, +209, +215, +217, +218 a +222, kde číslování poloh odpovídá přirozeně se vyskytujícímu subtilisinu z *Bacillus amyloliquefaciens* nebo ekvivalentním aminokyselinovým zbytkům u jiných karbonylhydroláz nebo subtilisinů, např. subtilisinu *Bacillus lentus* (kopendující patentová přihláška U.S. 60/048,550, 4. červen 1997 a PCT mezinárodní přihláška PCT/IB98/00853).

Pro předkládaný vynález jsou také vhodné proteázy popsané v patentové přihlášce EP 251 446 a WO 91/06637, proteáza BLAP® popsaná ve WO 91/02792 a jejich varianty popsané ve WO 95/23221.

Viz též proteáza *Bacillus* sp NCIMB 40338 s vysokým pH, popsanou ve WO 93/18140 A (Novo). Enzymatické detergenty obsahující proteázu, jeden nebo více dalších

enzymů a inhibitor reversní proteázy se popisují ve WO 92/03529 A (Novo). Proteáza se sníženou adsorpcí a zvýšenou hydrolýzou se popisuje ve WO 95/07791 (Procter & Gamble). Rekombinantní trypsinu-podobná proteáza pro detergenty se popisuje ve WO 94/25583 (Novo). Další vhodné proteázy se popisují v EP 516 200 (Unilever).

Obzvláště užitečné proteázy se popisují v PCT publikacích: WO 95/30010, WO 95/30011 a WO 95/29979. Vhodné proteázy jsou komerčně dostupné jako ESPERASE®, ALCALASE®, DURAZYM®, SAVINASE®, EVERLASE® a KANNASE®, vše dodává Novo Nordisk A/S Dánsko a MAXATASE®, MAXACAL®, PROPERASE® a MAXAPEM®, vše dodává Genencor International (dříve Gist-Brocades, Holandsko).

Obsah proteolytických enzymů přítomných v čistících prostředcích odpovídá koncentraci čistého enzymu 0,0001 až 2 %, výhodně 0,001 až 0,2, výhodněji 0,005 až 0,1 % hmotnosti prostředku.

Pro odstranění skvrn cukerné povahy se také zahrnují amylázy (α a/nebo β). WO 94/02597 popisuje čistící prostředky obsahující mutantní amylázy. Viz též WO 95/10603. Další amylázy známé pro použití v čistících prostředcích zahrnují jak α tak β amylázy. α -Amylázy jsou v oboru známé a popisují se v U.S. patentu 5,003,275, EP 252,666, WO 91/00353, FR 2,676,456, EP 285,123, EP 525,610, EP 368,341 a britské patentové specifikaci 1,296,839 (Novo). Další vhodné amylázy jsou amylázy se zesílenou stabilitou popsané ve WO 94/18314 a WO 96/05295 (Genencor) a amylázové varianty s dalšími modifikacemi mateřské amylázy dodávané Novo Nordisk A/S, popisované ve WO 95/10603. Vhodné jsou také amylázy popisované v EP 277216.

Příklady komerčních produktů α -amyláz jsou Purafect Ox Am® (Genencor), Termamyl®, Ban®, Fungamyl® a Duramyl® (vše Novo Nordisk A/S Dánsko). WO 95/26397 popisuje další vhodné amylázy, α -amylázy se specifickou aktivitou alespoň o 25 % vyšší než je specifická aktivita Termamylu® v teplotním rozmezí 25 až 55 °C a rozmezí pH 8 až 10, měřeno testem aktivity α -amylázy Phadebas®. Vhodné jsou varianty výše uvedených enzymů, popsané ve WO 96/23873 (Novo Nordisk). WO 95/35382 popisuje další amylolytické enzymy s vylepšenými vlastnostmi, aktivitou a spojením vyšší aktivity s termostabilitou.

Obsah amylolytických enzymů přítomných v čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu odpovídá koncentraci čistého enzymu 0,0001 až 2 % , výhodně 0,00018 až 0,06, výhodněji 0,00024 až 0,048 % hmotnosti prostředku.

Výše uvedené enzymy jsou libovolného vhodného původu, např. rostlinného, živočišného, bakteriálního, fungálního a kvasinkového původu. Původ může být dále mesofilní nebo extremofilní (psychofilní, psychrotrofní, termofilní, barofilní, alkalofilní, acidofilní, halofilní atd.). Použitelné jsou čištěné i nečištěné formy těchto enzymů. Dnes je obecným postupem modifikovat enzymy divokého typu technikami proteinového/genového inženýrství, aby se optimalizovala jejich účinnost v pracích detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu a/nebo prostředcích na údržbu tkanin podle předkládaného vynálezu. Např. se navrhuje varianty s navýšenou kompatibilitou enzymu s přísadami vyskytujícími se v těchto prostředcích. Nebo se navrhuje varianty, jejichž optimální pH, bělicí a chelatační stabilita, katalytická aktivita a tak podobně, je přizpůsobeno dané čistící aplikaci.

Pozornost se soustřeďuje zejména na aminokyseliny sensitive k oxidaci v případě stability bělidla a na náboj povrchu u surfaktantové kompatibility. Isoelektrický bod takových enzymů je modifikovatelný substitucí některých aminokyselin s nábojem, např. zvýšení isoelektrického bodu vede k lepší kompatibilitě s aniontovými surfaktanty. Stabilita enzymů je dále vylepšitelná vytvářením dalších solných můstků a posílením vazebných míst vápníku ke zvýšení chelantové stability.

Obsah výhodných deterzivních enzymů přítomných v čistících prostředcích odpovídá koncentraci čistého enzymu 0,0001 až 2 % hmotnosti čistícího prostředku. Enzymy se mohou přidávat jako oddělené jednotlivé přísady (prily, granule, stabilizované tekutiny atd. obsahující jeden enzym) nebo jako směsi dvou nebo více enzymů (např. kogranuláty).

Další vhodné detergentní přísady jsou lapače enzymové oxidace. Příkladem jsou ethoxylované tetraethylenpolyaminy.

Množství enzymových látek a způsobů jejich začlenění do syntetických detergentních prostředků se popisuje také ve WO 9307263 a WO 9307260 (Genencor International), WO 8908694 a US 3,553,139, 5. leden 1971 (McCarty et al.). Enzymy se dále popisují v US 4,101,457 a US 4,507,219. US 4,261,868 zveřejňuje enzymové látky užitečné pro tekuté detergentní formulace a jejich začlenění do takových formulací.

Stabilizátory enzymů. Enzymy použité v detergentech se stabilizují různými metodami. Metody stabilizace enzymů se popisují a příklady dokládají v US 3,600,319, EP 199,405 a EP 200,586. Enzymové stabilizační systémy se také popisují např. v US 3,519,570. Užitečný *Bacillus sp.* AC13 poskytující proteázy, xylanázy a celulózy se popisuje ve WO 9401532. Zde používané enzymy se stabilizují přítomností ve vodě rozpustných zdrojů iontů vápenatých a/nebo hořečnatých v konečných prostředcích, které enzymům tyto ionty poskytnou. Vhodné stabilizátory enzymů a koncentrace použití se popisují v U.S. patentech 5,705,464, 5,710,115 a 5,576,282.

Plnidla. Zde popisované detergentní a bělicí prostředky výhodně obsahují jeden nebo více detergentních plnidel nebo plnidlových systémů. Obsah plnidel přítomných v prostředcích je nejméně 1 %, výhodně nejméně 5 %, výhodněji nejméně 10 %, maximálně 80 %, výhodně maximálně 50 %, výhodněji maximálně 30 % hmotnosti prostředku. Nevylučují se ani nižší nebo vyšší koncentrace plnidel.

Výhodná plnidla použitá ve zde popisovaných bělicích prostředcích, zejména prostředcích na mytí nádobí, zahrnují ale nejsou omezena na ve vodě rozpustné plnidlové sloučeniny (např. polykarboxyláty) popsané v U.S. patentech 5,695,679, 5,705,464 a 5,710,115. Další vhodné polykarboxyláty se zveřejňují v U.S. patentech 4,144,226, 3,308,067 a 3,723,322. Výhodné polykarboxyláty jsou hydrokarboxyláty obsahující až tři karboxylové skupiny v molekule, zejména titráty.

Anorganické nebo P-obsahující detergentní plnidla zahrnují ale nejsou omezeny na soli polyfosfátů, soli alkalických kovů, soli amonné a alkanolamonné (např. tripolyfosfáty, pyrofosfáty, a skelné polymerní metafosfáty), fosfonáty (viz např. U.S. patenty 3,159,581, 3,213,030, 3,422,021, 3,400,148 a 3,422,138), fytoová kyselina, křemičitany, uhličitany (včetně hydrogenuhlíčanů a seskviuhlíčanů), sírany a hlinitokřemičitany.

V některých případech se vyžadují nefosfátová plnidla. Je důležité, že prostředky podle předkládaného vynálezu fungují překvapivě dobře i v přítomnosti tak zvaných „slabých“ plnidel (ve srovnání s fosfáty) jako citráty, nebo v takzvané „underbuilt“ situaci, se zeolitem nebo vrstvenými křemičitanovými plnidly.

Vhodné křemičitany zahrnují vodou rozpustné sodné křemičitany s poměrem $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ v rozmezí 1,0 až 2,8, výhodně 1,6 až 2,4 a nejvýhodněji 2,0. Křemičitany jsou ve formě nevodné soli nebo hydrátu. Nejvýhodnější je sodný křemičitan s poměrem $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$

2,0. Obsah křemičitanů přítomných ve zde popsaných detergentních a bělicích prostředcích je 5 až 50 %, výhodněji 10 až 40 % hmotnosti prostředku.

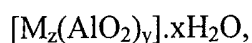
Částečně rozpustné nebo nerozpustné plnidlové sloučeniny vhodné pro použití v detergentních a bělicích prostředcích, zvláště granulárních detergentních prostředcích zahrnují ale nejsou omezeny na krystalické vrstvené křemičitany, výhodně krystalické vrstvené křemičitany sodné (částečně rozpustné ve vodě), popsané v U.S. patentu 4,664,839, a hlinitokřemičitany sodné (nerozpustné ve vodě). Obsah plnidel přítomných v detergentních a bělicích prostředcích je obvykle 1 až 80 %, výhodněji 10 až 70 %, nejvýhodněji 20 až 60 % hmotnosti prostředku.

Ve zde popisovaných prostředcích se používají krystalické vrstvené křemičitany sodné mající obecný vzorec $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1} \cdot y\text{H}_2\text{O}$, kde M je sodík nebo vodík, x je číslo 1,9 až 4, výhodně 2 až 4, nejvýhodněji rovno 2 a y je číslo 0 až 20, výhodně 0. Krystalické vrstvené křemičitany sodné tohoto typu se popisují v EP-A-0164514 a způsoby jejich přípravy se zveřejňují v DE-A-3417649 a DE_A_3742043. Nejvýhodnější je látka delta- Na_2SiO_5 , dodávaná firmou Hoechst AG jako NaSKS-6 (obecně zde zkracovaná jako „SKS-6“). Na rozdíl od zeolitových plnidel křemičitanové plnidlo NaSKS-6 neobsahuje hliník. NaSKS-6 má morfologii delta- Na_2SiO_5 formy vrstveného křemičitanu. Ve zde popisovaných prostředcích je velmi výhodně používán vrstvený křemičitan SKS-6, ve zde popisovaných prostředcích jsou použitelné i další vrstvené křemičitany obecného vzorce $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1} \cdot y\text{H}_2\text{O}$, kde M je sodík nebo vodík, x je číslo 1,9 až 4, výhodně 2 a y je číslo 0 až 20, výhodně 0. Další různé vrstvené křemičitany dodávané firmou Hoechst zahrnují NaSKS-5, NaSKS-7 a NaSKS-11 jako alfa, beta a gama formy. Nejvýhodnější použití zde má delta- Na_2SiO_5 , (forma NaSKS-6). Použitelné jsou i další křemičitany, např. křemičitan hořečnatý, které slouží jako činidlo dodávající křehkost granulárním formulacím, jako stabilizační činidlo pro kyslíkatá bělidla a jako složka systémů kontroly pěnivosti.

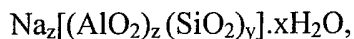
Krystalické vrstvené křemičitany sodné jsou výhodně přítomné v granulárních detergentních prostředcích jako partikulát v příměsi s pevnou ve vodě rozpustnou ionizovatelnou látkou. Pevná ve vodě rozpustná ionizovatelná látka se výhodně vybírá ze skupiny organických kyselin, solí organických a anorganických kyselin a jejich směsí.

Hlinitokřemičitanová plnidla jsou velmi důležitá v současnosti prodáváných granulárních detergentních prostředcích s velkou účinností a v detergentních prostředcích k

běžnému použití a jsou i významnou plnidlovou přísadou v tekutých detergentních formulacích. Hlinitokřemičitanová plnidla mají empirický vzorec:

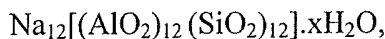


kde z a y jsou celá nezáporná čísla rovna nejméně 6, molární poměr z:y je v rozmezí 1,0 až 0,5 a x je celé nezáporné číslo v rozmezí 15 až 264. Výhodně je hlinitokřemičitanové plnidlo hlinitokřemičitanový zeolit se vzorcem jednotky:

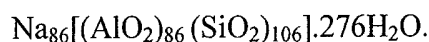


kde z a y jsou celá nezáporná čísla rovna nejméně 6, molární poměr z:y je v rozmezí 1,0 až 0,5 a x je celé nezáporné číslo rovno nejméně 5, výhodně 7,5 až 276, výhodněji 10 až 264. Hlinitokřemičitanová plnidla jsou výhodně v hydratované formě a výhodně krystalická, obsahující 10 až 28 %, výhodněji 18 až 22 % vody ve vázané formě.

Tyto hlinitokřemičitanové iontoměničové látky mohou mít krystalickou nebo amorfni strukturu a mohou to být přirozeně se vyskytující nebo syntetické hlinitokřemičitany. Způsob přípravy hlinitokřemičitanových iontoměničových látek se zveřejňuje v US 3,985,669. Zde výhodně použitelné syntetické krystalické hlinitokřemičitanové iontoměničové látky jsou dostupné pod označením Zeolite A, Zeolite B, Zeolite P, Zeolite X, Zeolite MAP a Zeolite HS a jejich směsi. Ve velmi výhodném provedení má krystalická hlinitokřemičitanová iontoměničová látka vzorec:



kde x je 20 až 30, zejména 27. Tato látka je známá jako Zeolite A. Použitelné jsou také dehydratované zeolity ($x = 0-10$). Výhodně má hlinitokřemičitan velikost částic 0,1-10 mikronů v průměru. Zeolite X má vzorec:



Citrátová plnidla, např. kyselina citronová a její rozpustné soli (zejména sodná sůl) jsou polykarboxylátová plnidla zvláštního významu v tekutých detergentních prostředcích s velkou účinností, protože jsou dostupná z obnovovatelných zdrojů a biodegradabilní. Citráty jsou také použitelné do granulárních prostředků, zejména ve spojení se zeolitem a/nebo vrstvenými křemičitanovými plnidly. V takových prostředcích a kombinacích jsou také velmi užitečné oxydisukcináty.

Ve zde popsaných detergentních prostředcích jsou také velmi vhodné 3,3-dikarboxy-4-oxa-1,6-hexandioáty a příbuzné sloučeniny popsané v US patentu 4,566,984. Užitečná plnidla

odvozená od kyseliny jantarové zahrnují C_5 - C_{20} alkyl- a alkenyljantarové kyseliny a jejich soli. Zvláště výhodná sloučenina tohoto typu je dodecenyljantarová kyselina. Specifické příklady sukcinátových plnidel zahrnují: laurylsukcinát, mirystylsukcinát, palmitylsukcinát, 2-dodecenylsukcinát (výhodný), 2-pentadecenylsukcinát a tak podobně. Výhodná plnidla z této skupiny jsou laurylsukcináty, popsané v evropské patentové přihlášce 86200690.5/0,200,263, 5. listopad 1986.

Mastné kyseliny, např. C_{12} - C_{18} monokarboxylové kyseliny se také mohou inkorporovat do výše uvedených prostředků samotné nebo ve spojení s výše uvedenými plnidly, zejména citrátovými a/nebo sukcinátovými plnidly. Použití mastných kyselin obecně vede ke zmenšení tvorby mydlin, což navrhovatel bere na zřetel.

Dispersanty. Do čistících prostředků podle předkládaného vynálezu se také mohou začlenit jeden nebo více vhodných polyalkyleniminových dispersantů. Příklady vhodných dispersantů se popisují v evropských patentových přihláškách 111,965, 111,984 a 112,592, v U.S. patentech 4,597,898, 4,548,744 a 5,565,145. V pracích prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou použitelná jakákoliv vhodná činidla dispergující hlínu/půdu a činidla antiredepozitní.

Použitelná v předkládaném vynálezu jsou dále polymerní disperzní činidla zahrnující polymerní polykarboxyláty a polyethylen glykoly. Nenasycené monomerní kyseliny, které polymerizací poskytnou vhodné polymerní polykarboxyláty zahrnují kyselinu akrylovou, maleinovou kyselinu (nebo maleinanhydrid), kyselinu fumarovou, itakonovou kyselinu, akonitovou kyselinu, mesakonovou kyselinu, citrakonovou kyselinu a kyselinu methylenmalonovou. Zejména vhodné polymerní karboxyláty se odvozují od kyseliny akrylové. Užitečné jsou ve vodě rozpustné soli polymerizované akrylové kyseliny. Průměrná molekulová hmotnost těchto polymerů v kyselé formě je výhodně v rozmezí 2 000 až 10 000, výhodněji 4 000 až 7 000 a nejvýhodněji 4 000 až 5 000. Ve vodě rozpustné soli polymerů z akrylové kyseliny zahrnují např. soli alkalických kovů, soli amonné a substituované amonné. Rozpustné polymery tohoto typu jsou známé látky. Použití polyakrylátů tohoto typu v detergentních prostředcích se zveřejňuje např. v US 3,308,067.

Výhodnými složkami disperzačního/antiredepozitního činidla jsou také akrylové/maleinové kopolymery. Tyto látky zahrnují ve vodě rozpustné soli kopolymerů akrylové a maleinové kyseliny. Průměrná atomová hmotnost těchto kopolymerů v kyselé

formě je výhodně v rozmezí 2 000 až 100 000, výhodněji 5 000 až 75 000 a nejvýhodněji 7 000 až 65 000: Poměr akrylátových a maleinátových segmentů v kopolymerech je obecně v rozmezí 30:1 až 1:1, výhodněji 10:1 až 2:1. Ve vodě rozpustné soli akrylátových/maleinátových kopolymerů zahrnují např. soli alkalických kovů, soli amonné a substituované amonné. Rozpustné akrylátové/maleinátové kopolymery tohoto typu jsou známé látky, popsané v evropské patentové přihlášce 66915, 15. prosinec 1982, EP 193,360, 3. září 1986, popisujícím také polymery obsahující hydroxypropylakryláty. Další užitečná disperzační činidla zahrnují terpolymery akryl/malein/vinylalkoholu. Tyto látky se také zveřejňují v EP 193,360, např. 45/45/10 terpolymer akryl/malein/vinylalkoholu.

Další použitelná polymerní látka je polyethylenglykol (PEG). PEG vykazuje účinek disperzačního činidla a působí zároveň jako antiredepozitní činidlo k odstraňování jílovitých skvrn. Molekulové hmotnosti pro tyto účely se typicky pohybují v rozmezí 500 až 100 000, výhodně 1 000 až 50 000, výhodněji 1 500 až 10 000.

Použitelná jsou také polyaspartátová a polyglutamátová disperzační činidla, zejména ve spojení se zeolitovými plnidly. Molekulová hmotnost polyaspartátových disperzačních činidel je výhodně 10 000.

Činidla uvolňující špínu. Prostředky podle předkládaného vynálezu mohou výhodně obsahovat jedno nebo více činidel uvolňujících špínu. Obsah přítomných činidel uvolňujících špínu je obecně nejméně 0,01 %, výhodně 0,1 %, výhodněji 0,2 %, maximálně 10 %, výhodně 5 %, výhodněji 3 % hmotnosti prostředku. Nelimitující příklady vhodných polymerů uvolňujících špínu se zveřejňují v U.S. patentech 5,728,671, 5,691,298, 5,599,782, 5,415,807, 5,182,043, 4,956,447, 4,976,879, 4,968,451, 4,925,577, 4,861,512, 4,877,896, 4,771,730, 4,711,730, 4,721,580, 4,000,093, 3,959,230 a 3,893,929 a evropské patentové přihlášce 0 219 048.

Další vhodná činidla uvolňující špínu se popisují v U.S. patentech 4,201,824, 4,240,918, 4,525,524, 4,579,681, 4,220,918 a 4,787,989, EP 279,134 A, EP 457,205 A a DE 2,335,044.

Chelatační činidla. Prostředky podle předkládaného vynálezu výhodně obsahují chelatační činidlo, které slouží k chelataci iontů kovů a kovových nečistot, které by jinak deaktivovaly bělicí činidlo/činidla. Užitečná chelatační činidla zahrnují aminokarboxyláty, fosfonáty, aminofosfonáty, polyfunkčně substituovaná aromatická chelatační činidla a jejich

směsi. Další příklady vhodných chelatačních činidel a použitých koncentrací se popisují v U.S. patentech 5,705,464, 5,710,115, 5,728,671 a 5,576,282.

Zde uváděné prostředky mohou také obsahovat ve vodě rozpustné soli methylglycindiocetové kyseliny (MGDA) (nebo kyselinu v kyselé formě) jako chelant nebo koplaidlo použitelné s nerozpustnými plnidly jako zeolity, vrstvenými křemičitany a tak podobně. Obsah přítomných chelatačních činidel je obecně 0,1 až 15 %, výhodněji 0,1 až 3,0 % hmotnosti detergentních prostředků.

Supresory mydlin. Další výhodnou příměsí jsou supresory mydlin, doloženým příkladem jsou silikony a směsi silika-silikonové směsi. Příklady vhodných supresorů mydlin se zveřejňují v U.S. patentech 5,707,950 a 5,728,671. Obsah supresorů mydlin je obecně 0,001 až 2 %, výhodněji 0,01 až 1 % hmotnosti prostředku.

Změkčovadla. Do pracích detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu se také přidávají činidla změkčující látky. Příkladem anorganických změkčovadel jsou smektické jíly popsané v GB-A-1 400 898 a US 5,019,292. Organická změkčovadla zahrnují ve vodě nerozpustné terciární aminy popsané v GB-A-1 514 276 a EP-B-011 340 a jejich kombinace s mono C12-C14 kvarterními amonnými solemi, popsané v EP-B-026 527 a EP-B-026 528 a amidy s dvojnými dlouhými řetězci popsané v EP-B-0 242 919. Další užitečné organické příměsi systémů změkčujících látek zahrnují vysokomolekulární polyethylenoxidy popsané v EP-A-0 299 575 a 0 313 146.

Zvláště výhodná změkčovadla látek se zveřejňují v U.S. patentech 5,707,950 a 5,728,673.

Obsah smektického jílu je běžně v rozmezí 2 až 20 hmot %, výhodněji 5 až 15 hmot %, látka se přidává jako vysušená směsná komponenta ke zbytku formulace. Organická změkčovadla jako ve vodě nerozpustné terciární aminy nebo amidy s dvojnými dlouhými řetězci se používají v rozmezí 0,5 až 5 hmot %, běžně 1 až 3 hmot %, zatímco vysokomolekulární polyethylenoxidy a ve vodě rozpustné kationtové látky se přidávají v koncentraci 0,1 až 2 hmot %, běžně 0,15 až 1,5 hmot %. Tyto látky se běžně přidávají ke sprejem-vysušené části prostředku, v některých případech je vhodnější je přidat jako vysušenou směsnou složku, nebo je sprejovat jako roztavenou tekutinu na další pevné složky prostředku.

Jako alternativa k tradičně používaným chloridům a methylsíranům amonným s dvojnými dlouhými řetězci se ukazují biodegradabilní kvarterní amonné sloučeniny popsané v EP-A-040 562 a EP-A-239 910.

Nelimitující příklady se změkčovadly kompatibilních aniontů pro kvarterní amonné sloučeniny a aminoprekursory zahrnují chlorid a methylsíran.

Inhibice přenosu barviv. Detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu mohou také obsahovat sloučeniny inhibující přenos barviv z jedné tkaniny na druhou při solubilizaci a suspendaci barviv vyskytujících se během praní a údržby barevných tkanin.

Polymerní činidla inhibující přenos barviv. Detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu mohou také obsahovat 0,001 až 10 hmot. %, výhodně 0,01 až 2 hmot. %, výhodněji 0,05 až 1 hmot. % polymerních činidel inhibujících přenos barviv. Polymerní činidla inhibující přenos barviv se běžně začleňují do detergentních prostředků, aby inhibovala přenos barviv z barevné látky na látky prané současně. Tyto polymery mají schopnost komplexovat nebo adsorbovat fugitivní barviva vymytá z barvených látek dříve, než se barvy mají příležitost přichytit na další předměty v práci lázni.

Obzvláště vhodná polymerní činidla inhibující přenos barviv jsou polyamin-N-oxid-polymery, kopolymery N-vinylpyrolidonu a N-vinylimidazolu, polyvinylpyrolidonové polymery, jejich polyvinylloxazolidonové a polyvinylimidazolové směsi. Příklady takových činidel inhibujících přenos barviv se popisují v U.S. patentech 5,707,950 a 5,707,951.

Další vhodná činidla inhibující přenos barviv zahrnují ale nejsou omezena na zesíťované polymery. Zesíťované polymery jsou polymery s určitým stupněm propojení jejich kostry, tato propojení jsou chemické nebo fyzikální povahy, eventuálně s aktivními skupinami na kostře nebo na postranních větvích, zesíťované polymery se popisují v Journal of Polymer Science, Vol. 22, pp 1035-1039.

V jednom provedení tvoří zesíťované polymery trojdimenzionální rigidní strukturu, která vychytává barviva do pórů tvořených trojdimenzionální strukturou. V jiném provedení zesíťované polymery vychytávají barviva bobtnáním. Takové zesíťované polymery se popisují v kopendující evropské patentové přihlášce 94870213.9.

Přídavek těchto polymerů také zlepšuje působení enzymů podle předkládaného vynálezu.

Změny pH a pufování. Mnoho detergentních a bělicích prostředků zde popsaných se pufruje, jsou relativně rezistentní vůči poklesu pH v přítomnosti kyselého znečištění. Jiné zde

popsané prostředky mají mimořádně nízkou pufrovací kapacitu nebo jsou podstatně nepufrované. Techniky kontroly nebo změny pH na doporučenou uživatelskou úroveň obecně zahrnují použití nejen pufrů, ale též alkalií, kyselin, systémů skokového pH, duálních kompartmentních kontejnerů atd., odborníkům v oboru jsou dobře známé.

Výhodné ADD prostředky zde zahrnují pH-adjustující složku vybranou ze skupiny obsahující ve vodě rozpustné alkalické anorganické soli a ve vodě rozpustná organická nebo anorganická plnidla, což se popisuje v U.S. patentech 5,705,464 a 5,710,115.

Činidla pro ochranu látek. Výhodné ADD prostředky obsahují jedno nebo více činidel pro ochranu látek, která jsou účinná jako inhibitory koroze a/nebo napomáhají proti zmatnění, jak se popisuje v U.S. patentech 5,705,464, 5,710,115 a 5,646,101.

Obsah přítomných činidel pro ochranu látek je výhodně nízký, např. 0,01 až 5 % ADD prostředku.

Další látky. Detersivní příměsi nebo adjunkty výhodně začleněné do zde uváděných prostředků zahrnují jednu nebo více látek k podpoře nebo zlepšení čistícího působení, údržbě čištěného substrátu nebo navržené ke zlepšení estetiky prostředků. Adjunkty, které bývají také začleněné do prostředků podle předkládaného vynálezu v koncentraci konvenčně v oboru stanovené (obecně adjunktní látky představují celkově 30 až 99,9 %, výhodně 70 až 95 % hmotnosti prostředků), zahrnují další aktivní příměsi jako nefosfátová plnidla, činidla na barevné skvrny, činidla pro ochranu stříbra, činidla proti zmatnění a/nebo činidla antikorozivní, barviva, plnidla, germicidy, zdroje alkality, hydrotrophy, antioxidanty, parfémy, solubilizační činidla, nosiče, pomocná činidla při zpracování, pigmenty, činidla pro kontrolu pH, viz US Patents 5,705,464, 5,710,115, 5,698,504, 5,695,679, 5,686,014 a 5,646,101.

Způsoby čištění. Kromě zde popsaných způsobů čištění látek, nádobí a jiných pevných povrchů, částí těla při osobní očištění, předkládaný vynález také poskytuje způsob předpírky látek ušpiněných nebo se skvrnami, zahrnující přímý kontakt skvrn a/nebo špíny s vysoce koncentrovanou formou bělicího prostředku výše uvedeného před vlastním praním v konvenčních vodných pracích roztocích. Výhodně zůstává bělicí prostředek v kontaktu se skvrnami a/nebo špínou po dobu v rozmezí 30 sekund až 24 hodin před vlastním praním přepraného substrátu konvenčním způsobem. Výhodněji je doba předpírky v rozmezí 1 až 180 minut.

Následující příklady dokládají prostředky podle předkládaného vynálezu, ale neomezují rámec vynálezu.

V následujících příkladech Proteáza¹ představuje proteázovou variantu obsahující substituci aminokyselinových zbytků jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem v polohách odpovídajících polohám 101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*. Proteáza¹ se může substituovat jakoukoliv jinou další proteázovou variantou podle předkládaného vynálezu, s v podstatě podobnými výsledky v následujících příkladech.

V čistících prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou koncentrace enzymu Proteáza¹ vyjádřeny jako čistý enzym v celkové hmotnosti prostředku, další enzymové koncentrace jsou vyjádřeny jako surová látka v celkové hmotnosti prostředku a pokud není uvedeno jinak, ostatní příměsy jsou vyjádřeny v celkové hmotnosti prostředku.

V následujících příkladech jsou použity některé zkratky odborníkům v oboru známé, konsistentní s popisem zde uvedeným.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Granulární prostředek do automatických myček nádobí

Složka	A	B	C
Kyselina citronová	15,0	-	-
Citrát	4,0	29,0	15,0
Akrylát/methakrylátový kopolymer	6,0	-	6,0
Kopolymer akrylové a maleinové kyseliny	-	3,7	-
Přídavek suchého uhličitanu	9,0	-	20,0
Křemičitan alkalického kovu	8,5	17,0	9,0
Parafin	-	0,5	-
Benzotriazol	-	0,3	-
Termamyl 60T	1,6	1,6	1,6

Proteáza ¹	0,2	0,1	0,06
Peroxouhličitan (AvO)	1,5	-	-
Monohydrát peroxoboritanu	-	0,3	1,5
Tetrahydrát peroxoboritanu	-	0,9	-
NOBS	-	-	2,40
TAED	3,8	4,4	-
Diethylentriaminpentamethylfosfonová kyselina (Mg sůl)	0,13	0,13	0,13
Alkylethoxysíran třikrát ethoxylovaný	3,0	-	-
Alkylethoxypropoxy-neinontový surfaktant	-	1,5	-
Supresor mydlin	2,0	-	-
Olin SLF 18 neiontový surfaktant	-	-	2,0
Síran (doplněno do 100 %)			

Příklad 2

Kompaktní vysokohustotní (0,96 kg/l) detergentní prostředky 2A až 2F na mytí nádobí podle předkládaného vynálezu

Složka	A	B	C	D	E	F
STPP	-	51,4	51,4	-	-	44,3
Citrát	17,05	-	-	49,6	40,2	-
Uhličitan	17,50	14,0	20,0		8,0	33,6
Hydrogenuhličitan	-	-	-	26,0	-	-
Křemičitan	14,81	15,0	8,0	-	25,0	3,6
Metakřemičitan	2,50	4,5	4,5	-	-	-
PB1	9,74	7,79	7,79	-	-	-
PB4	-	-	-	9,6	-	-
Peroxouhličitan	-	-	-	-	11,8	4,8

Neiontová složka	2,00	1,50	1,50	2,6	1,9	5,9
TAED	2,39	-	-	3,8	-	1,4
HEDP	1,00	-	-	-	-	-
DETPMP	0,65	-	-	-	-	-
Mn TACN	-	-	-	-	0,008	-
NOBS	-	2,40	-	-	-	-
PAAC	-	-	0,008	-	-	-
Parafin	0,50	0,38	0,38	0,6	-	-
Proteáza ¹	0,1	0,06	0,05	0,03	0,07	0,01
Amyláza	1,5	1,5	1,5	2,6	2,1	0,8
BTA	0,30	0,22	0,22	0,3	0,3	0,3
Polykarboxylát	6,0	-	-	-	4,2	0,9
Parfém	0,2	0,12	0,12	0,2	0,2	0,2
Síran / voda	20,57	1,97	2,97	3,6	4,5	3,9
pH (1% roztok)	11,0	11,0	11,3	9,6	10,8	10,9

Příklad 3

Granulární detergentní prostředky 3A až 3F na mytí nádobí podle předkládaného vynálezu se sypnou hmotností 1,02 kg/l

Složka	A	B	C	D	E	F
STPP	30,00	33,5	27,9	29,62	33,8	22,0
Uhličitan	30,50	30,50	30,50	23,00	34,5	45,0
Křemičitan	7,40	7,50	12,6	13,3	3,2	6,2
Metakřemičitan	-	4,5				
Peroxouhličitan	-	-		-	4,0	
PB1	4,4	4,5	4,3	-	-	
NaDCC	-	-		2,00	-	0,9

Neiontová složka	1,0	0,75	1,0	1,90	0,7	0,5
TAED	1,00	-		-	-	
NOBS	-	-	-	-	2,0	-
PAAC	-	0,004		-	-	
Parafin	0,25	0,25		-	-	
Proteáza ¹	0,05	0,06	0,025	0,1	0,02	0,07
Amyláza	0,38	0,64	0,46	-	0,6	
BTA	0,15	0,15		-	0,2	
Parfém	0,2	0,2	0,05	0,1	0,2	
Síran / voda	23,45	16,87	22,26	30,08	21,7	25,4
pH (1% roztok)	10,80	11,3	11,0	10,70	11,5	10,9

Příklad 4

Tabletové detergentní prostředky 4A až 4H podle předkládaného vynálezu se připravují kompresí granulárního detergentního prostředku na mytí nádobí při tlaku 13 KN/cm² s použitím standardního 12 hlavového rotačního lisu

Složka	A	B	C	D	E	F	G	H
STPP	-	48,8	54,7	38,2	-	52,4	56,1	36,0
Citrát	20,0	-	-	-	35,9	-	-	-
Uhličitan	20,0	5,0	14,0	15,4	8,0	23,0	20,0	28,0
Křemičitan	15,0	14,8	15,0	12,6	23,4	2,9	4,3	4,2
Proteáza ¹	0,05	0,09	0,05	0,03	0,06	0,03	0,03	0,1
Amyláza	1,5	1,5	1,5	0,85	1,9	0,4	2,1	0,3
PB1	14,3	7,8	11,7	12,2	-	-	6,7	8,5
PB4	-	-	-	-	22,8	-	3,4	-
Peroxouhličitan	-	-	-	-	-	10,4	-	-
Neiontová složka	1,5	2,0	2,0	2,2	1,0	4,2	4,0	6,5

PAAC	-	-	0,016	0,009	-	-	-	-
Mn TACN	-	-	-	-	0,007	-	-	-
TAED	2,7	2,4	-	-	-	2,1	0,7	1,6
HEDP	1,0	-	-	0,93	-	0,4	0,2	-
DETPMP	0,7	-	-	-	-	-	-	-
Parafin	0,4	0,5	0,5	0,55	-	-	0,5	-
BTA	0,2	0,3	0,3	0,33	0,3	0,3	0,3	-
Polykarboxylát	4,0	-	-	-	4,9	0,6	0,8	-
PEG	-	-	-	-	-	2,0	-	2,0
Glycerol	-	-	-	-	-	0,4	-	0,5
Parfém	-	-	-	0,05	0,20	0,2	0,2	0,2
Síran / voda	17,4	14,7	-	15,74	-	-	-	11,3
Hmotnost tablet	20 g	25 g	20 g	30 g	18 g	20 g	25 g	24,0
pH (1% roztok)	10,7	10,60	10,7	10,7	10,9	11,2	11,0	10,8

Příklad 5

Granulární čisticí prostředky na tkaniny

Složky	Příklad	
	A	B
Lineární alkylbenzensulfonát	11,4	10,70
Tallový alkylsíran	1,80	2,40
C ₁₄ -C ₁₅ alkylsíran	3,00	3,10
C ₁₄ -C ₁₅ alkohol 7 násobně ethoxylovaný	4,00	4,00
Tallový alkohol 11 násobně ethoxylovaný	1,80	1,80
Disperzant	0,07	0,1
Silikonová tekutina	0,80	0,80
Citrát trisodný	14,00	15,00
Kyselina citronová	3,00	2,50

Zeolit	32,50	32,10
Kopolymer kyseliny maleinové a akrylové	5,00	5,00
Diethylentriaminpentamethylenfosfonová kyselina	1,00	0,20
Proteáza ¹	0,1	0,01
Lipáza	0,36	0,40
Amyláza	0,30	0,30
Křemičitan sodný	2,00	2,50
Síran sodný	3,50	5,20
Polyvinylpyrolidon	0,30	0,50
Peroxoboritan	0,5	1
TAED	1,0	-
NOBS	-	1,0
Fenolsulfonát	0,1	-
Peroxidáza	0,1	0,1
Minoritní složky	Doplněno do 100	Doplněno do 100

Příklad 6

Granulární čisticí prostředky na tkaniny

Složky	Příklad	
	A	B
Lineární C ₁₂ alkylbenzensulfonát sodný	6,5	8,0
Síran sodný	15,0	18,0
Zeolit A	26,0	22,0
Nitrilotrioctan sodný	5,0	5,0
Polyvinylpyrolidon	0,5	0,7
TAED	3,0	-
NOBS	-	2,4
Kyselina boritá	4,0	-

Peroxoboritan	0,5	1
Fenolsulfonát	0,1	-
Proteáza ¹	0,02	0,05
Plnidla (např. křemičitany, uhličitany, parfémy, voda)	Doplněno do 100	Doplněno do 100

Příklad 7

Kompaktní granulární čisticí prostředek na tkaniny

Složky	Hmotnostní %
Alkylsírán	8,0
Alkylethoxysírán	2,0
Směs C ₂₅ a C ₄₅ alkoholů 3 a 7 násobně ethoxylovaných	6,0
Amid polyhydroxymastné kyseliny	2,5
Zeolit	17,0
Vrstvený křemičitan/citrát	16,0
Uhličitan	7,0
Kopolymer maleinové a akrylové kyseliny	5,0
Polymer pro uvolnění skvrn	0,4
Karboxymethylcelulóza	0,4
Poly(4-vinylpyridin)-N-oxid	0,1
Kopolymer vinylimidazolu a vinylpyrolidonu	0,1
PEG 2000	0,2
Proteáza ¹	0,03
Lipáza	0,2
Celulóza	0,2
TAED	6,0
Peroxouhličitan	22,0

Ethylendiamindijantarová kyselina	0,3
Supresor mydlin	3,5
4,4'-bis(2-morfolino-4-anilino-s-triazin-6-ylamino)stilben-2,2'-disulfonát disodný	0,25
4,4'-bis(2-sulfostyryl)bifenyl disodný	0,05
Voda, parfém a minoritní složky	Doplněno do 100

Příklad 8

Granulární čisticí prostředky na tkaniny

Složka	Hmotnostní %
Lineární alkylbenzensulfonát	7,6
C ₁₆ -C ₁₈ Alkylsírán	1,3
C ₁₄ -C ₁₅ Alkohol 7 násobně ethoxylovaný	4,0
Chlorid kakaový-alkyl-dimethylhydroxyethylamonný	1,4
Dispersant	0,07
Silikonová tekutina	0,8
Citrát trisodný	5,0
Zeolit A4	15,0
Kopolymer maleinové a akrylové kyseliny	4,0
Diethylentriaminpentamethylenfosfonová kyselina	0,4
Peroxoboritan	15,0
TAED	5,0
Smektický jíl	10,0
Poly(oxyetylen) (MW 300 000)	0,3
Proteáza ¹	0,02
Lipáza	0,2
Amyláza	0,3

Celuláza	0,2
Křemičitan sodný	3,0
Uhličitan sodný	10,0
Karboxymethylcelulóza	0,2
Zjasňovače	0,2
Voda, parfém a minoritní složky	Doplněno do 100

Příklad 9

Granulární čistící prostředek na tkaniny

Složka	Hmotnostní %
Lineární alkylbenzensulfonát	6,92
Tallový alkylsírán	2,05
C ₁₄ -C ₁₅ alkohol 7 násobně ethoxylovaný	4,4
C ₁₂ -C ₁₅ alkylethoxysírán 3 násobně ethoxylovaný	0,16
Zeolit	20,2
Citrát	5,5
Uhličitan	15,4
Křemičitan	3,0
Kopolymer kyseliny maleinové a akrylové	4,0
Karboxymethylcelulóza	0,31
Polymer pro uvolnění skvrn	0,30
Proteáza ^I	0,1
Lipáza	0,36
Celuláza	0,13
Tetrahydrát peroxoboritanu	11,64
Monohydrát peroxoboritanu	8,7
TAED	5,0
Diethylenetriaminpentamethylenfosfonová kyselina	0,38

Síran hořečnatý	0,40
Zjasňovače	0,19
Parfém, silikon, supresory mydlin	0,85
Minoritní složky	Dolněno do 100

Příklad 10

Granulární čisticí prostředek na tkaniny

Složka	A	B	C
Základní granulární složky			
LAS/AS/AES (65/35)	9,95	-	-
LAS/AS/AES (70/30)	-	12,05	7,70
Hlinitokřemičitan	14,06	15,74	17,10
Uhličitan sodný	11,86	12,74	13,07
Křemičitan sodný	0,58	0,58	0,58
NaPAA pevné látky	2,26	2,26	1,47
PEG pevné látky	1,01	1,12	0,66
Zjasňovače	0,17	0,17	0,11
DTPA	-	-	0,70
Síran	5,46	6,64	4,25
DC-1400 odvzdušňovač	0,02	0,02	0,02
Vlhkost	3,73	3,98	4,33
Minoritní složky	0,31	0,49	0,31
B.O.T. Spray-on			
Neiontový surfaktant	0,50	0,50	0,50
Aglomerátové složky			
LAS/AS (25/75)	11,70	9,60	10,47
Hlinitokřemičitan	13,73	11,26	12,28
Uhličitan	8,11	6,66	7,26

PEG 4000	0,59	0,48	0,52
Vlhkost/minoritní složky	4,88	4,00	4,36
Funkční přísady			
Uhličitan sodný	7,37	6,98	7,45
Peroxoboritan	1,03	1,03	2,56
AC Base povlak	-	1,00	-
NOBS	-	-	2,40
Polymer pro uvolnění skvrn	0,41	0,41	0,31
Celulóza	0,33	0,33	0,24
Proteáza ¹	0,1	0,05	0,15
AE-Flake	0,40	0,40	0,29
Tekutý spray-on			
Parfém	0,42	0,42	0,42
Neiontový spray-on	1,00	1,00	0,50
Minoritní složky	Doplněno do 100		

Příklad 11

Granulární čistící prostředek na tkaniny

	A	B
Surfaktant		
NaLAS	6,40	-
KLAS	-	9,90
AS/AE3S	6,40	4,39
TAS	0,08	0,11
C24AE5	3,48	-
Genagen	-	1,88
N-kokoyl-N-methylglukamin(lin)	1,14	2,82
Chlorid C ₈ -C ₁₀ -dimethylhydroxyethylamonný	1,00	1,40

Plnidla		
Zeolit	20,59	13,39
SKS-6	10,84	10,78
Kyselina citronová	2,00	-
Pufr		
Uhličitan	9,60	12,07
Hydrogenuhlíčan	2,00	2,00
Síran	2,64	-
Křemičitan	0,61	0,16
Polymer		
Kopolymer kyselina akrylová / kyselina maleinová (Na)	1,17	1,12
CMC	0,45	0,24
Polymer	0,34	0,18
Hexamethylendiamintetra-E24ethoxylát dikvarternizovaný methylchloridem	1,00	1,00
Enzym		
Proteáza ¹ (% čistého enzymu)	0,03	0,03
Celuláza	0,26	0,26
Amyláza	0,65	0,73
Lipáza	0,27	0,15
Bělídlo		
TAED (100%)	3,85	3,50
Fenolsulfonátester kyseliny N-nonanoyl-6-aminokapronové	-	2,75
Peroxouhlíčan	16,20	18,30
HEDP	0,48	0,48
EDDS	0,30	0,30
Různé		
Jablečné granule		2,20+ bikarb
Zjasňovač 15/49	0,077/0,014	0,07/0,014
Ftalkyaninsulfonát zinečnatý	0,0026	0,0026

Polydimethylsiloxan s trimethylsilyl koncovými chránícími jednotkami	0,25	0,24
Mýdlo	-	1,00
Parfém	0,45	0,55
Celkem	100	100

Příklad 12

Granulární čisticí prostředek na tkaniny

	A	B
Surfaktant		
NaLAS	6,8	0,4
KLAS	-	10,9
FAS	0,9	0,1
AS	0,6	1,5
C25AE3S	0,1	-
AE5	4,2	-
N-kokoyl-N-methylglukamin	-	1,8
Genagen	-	1,2
Chlorid C ₈ -C ₁₀ -dimethylhydroxyethylamonný	-	1,0
Plnidla		
SKS-6	3,3	9,0
Zeolit	17,2	18,9
Kyselina citronová	1,5	-
Pufr		
Uhličitan	21,1	15,0
Hydrogenuhlíčan sodný	-	2,6
Síran	15,2	5,5
Kyselina jablečná	-	2,9

Křemičitan	0,1	-
Polymer		
Kopolymer kyselina akrylová / kyselina maleinová (Na)	2,2	0,9
Hexamethyldiamintetra-E24ethoxylát dikvarternizovaný methylchloridem	0,5	0,7
Polymer	0,1	0,1
CMC	0,2	0,1
Enzymy		
Proteáza ¹ (% čistého enzymu)	0,02	0,05
Lipáza	0,18	0,14
Amyláza	0,64	0,73
Celuláza	0,13	0,26
Bělidlo		
TAED	2,2	2,5
Fenolsulfonátester kyseliny N-nonanoyl-6-aminokapronové	-	1,96
Peroxouhličitan sodný	-	13,1
PB4	15,6	-
EDDS	0,17	0,21
MgSO ₄	0,35	0,47
HEDP	0,15	0,34
Zjasňovač	0,06	0,04
Ftalkyaninsulfonát zinečnatý	0,0015	0,0020
Polydimethylsiloxan s trimethylsilyl koncovými chránícími jednotkami	0,04	0,14
Mýdlo	0,5	0,7
Parfém	0,35	0,45
Spekl	0,5	0,6

Granulární detergentní prací prostředky 13A až 13C podle předkládaného vynálezu zvláště prospěšné podle Evropských podmínek pro praní v pračkách

Složka	A	B	C
LAS	7,0	5,61	4,76
TAS	-	-	1,57
C45AS	6,0	2,24	3,89
C25E3S	1,0	0,76	1,18
C45E7	-	-	2,0
C25E3	4,0	5,5	-
QAS	0,8	2,0	2,0
STPP	-	-	-
Zeolit A	25,0	19,5	19,5
Kyselina citronová	2,0	2,0	2,0
NaSKS-6	8,0	10,6	10,6
Uhličitan I	8,0	10,0	8,6
MA/AA	1,0	2,6	1,6
CMC	0,5	0,4	0,4
PB4	-	12,7	-
Peroxouhličitan	-	-	19,7
TAED	-	3,1	5,0
Citrát	7,0	-	-
DTPMP	0,25	0,2	0,2
HEDP	0,3	0,3	0,3
QEA 1	0,9	1,2	1,0
Proteáza ¹	0,02	0,05	0,035
Lipáza	0,15	0,25	0,15
Celuláza	0,28	0,28	0,28
Amyláza	0,4	0,7	0,3

PVPI/PVNO	0,4	-	0,1
Fotoaktivované bělidlo (ppm)	15 ppm	27 ppm	27 ppm
Zjasňovač 1	0,08	0,19	0,19
Zjasňovač 2	-	0,04	0,04
Parfém	0,3	0,3	0,3
Eferescentní granule (kyselina jablečná 40 %, hydrogenuhličitan sodný 40 %, uhličitan sodný 20 %)	15	15	5
Silikonová antipěna	0,5	2,4	2,4
Minoritní / inertní složky do 100 %			

Příklad 14

Následující formulace jsou příklady prostředků podle předkládaného vynálezu, které jsou ve formě granulí nebo ve formě tablet.

Složka	14
C45 AS/TAS	3,0
LAS	8,0
C25AE3S	1,0
NaSKS-6	9,0
C25AE5/AE3	5,0
Zeolit A	10,0
SKS-6 (I) (suchý přídavek)	2,0
MA/AA	2,0
Kyselina citronová	1,5
EDDS	0,5
HEDP	0,2
PB1	10,0
NACA OBS	2,0
TAED	2,0

Uhličitan	8,0
Síran	2,0
Amyláza	0,3
Lipáza	0,2
Proteáza ¹	0,02
Minoritní složky (zjasňovač/SRP1/CMC/ fotobělidlo/MgSO ₄ /PVPVI/ supresor mydlin/PEG	0,5
Parfém	0,5

Příklad 15

Tekuté čisticí prostředky na tkaniny

Složka	Příklad	
	A	B
C ₁₂ -C ₁₄ alkenyljantarová kyselina	3,0	8,0
Monohydrát kyseliny citronové	10,0	15,0
C ₁₂ -C ₁₅ alkylsíran sodný	8,0	8,0
C ₁₂ -C ₁₅ alkoholsíran sodný 2 násobně ethoxylovaný	-	3,0
C ₁₂ -C ₁₅ alkohol 7 násobně ethoxylovaný	-	8,0
C ₁₂ -C ₁₅ alkohol 5 násobně ethoxylovaný	8,0	-
Diethylenetriaminpenta(methylenfosfonová)kyselina	0,2	-
Kyselina olejová	1,8	-
Ethanol	4,0	4,0
Propandiol	2,0	2,0
Proteáza ¹	0,01	0,02
Supresor mydlin	0,15	0,15
NaOH	Doplněno na pH 7,5	
Peroxoboritan	0,5	1

Fenolsulfonát	0,1	0,2
Peroxidáza	0,4	0,1
Voda a minoritní složky	Doplněno do 100 %	

Příklad 16

Tekuté čisticí prostředky na tkaniny

	Příklad
Složka	17
NaLAS (100 % am)	16
Neodol	21,5
EDDS	1,2
Disperzant	1,3
Peroxoboritan	12
Fenolsulfonátester N-nonanoyl-6-aminokapronové kyseliny	6
Proteáza ¹ (% čistého enzymu)	0,03
Celuláza	0,03
Rozpouštědlo (BPP)	18,5
Polymer	0,1
Uhličitan	10
FWA 15	0,2
TiO ₂	0,5
PEG 8 000	0,4
Parfém	1,0-1,2
Supresor mydlin	0,06
Voda a minoritní složky	Doplněno do 100 %

Příklad 17

Dvouvrstvá efervescentní tableta na čištění umělého chrupu

Složka	Příklad			
	A	B	C	D
Kyselá vrstva				
Proteáza ¹	1,0	1,5	0,01	0,05
Kyselina vinná	24,0	24,0	24,0	24,0
Uhličitan sodný	4,0	4,0	4,0	4,0
Kyselina sulfamová	10,0	10,0	10,0	10,0
PEG 20 000	4,0	4,0	4,0	4,0
Hydrogenuhlíčan sodný	24,5	24,5	24,50	24,50
Peroxosíran draselný	15,0	15,0	15,0	15,0
Pyrofosfát sodný kyselý	7,0	7,0	7,0	7,0
Pyrogenní oxid křemičitý	2,0	2,0	2,0	2,0
Tetraacetylendiamin	7,0	7,0	7,0	7,0
Aroma	1,0	1,0	1,0	1,0
Alkalická vrstva				
Monohydrát peroxoboritanu sodného	32,0	32,0	32,0	32,0
Hydrogenuhlíčan sodný	19,0	19,0	19,0	19,0
EDTA	3,0	3,0	3,0	3,0
Tripolyfosfát sodný	12,0	12,0	12,0	12,0
PEG 20 000	2,0	2,0	2,0	2,0
Uhličitan sodný	2,0	2,0	2,00	2,00
Pyrogenní oxid křemičitý	2,0	2,0	2,00	2,00
Barvivo/ Aroma	2,0	2,0	2,00	2,00

Příklad 18

Granulární detergentní prací prostředky 18A až 18E připravené podle předkládaného vynálezu zvláště prospěšné podle Japonských podmínek pro praní v pračkách.

Složka	A	B	C	D	E
LAS	23,57	23,57	21,67	21,68	21,68
FAS	4,16	4,16	3,83	3,83	3,38
Neiontový surfaktant	3,30	3,30	2,94	3,27	3,27
Chlorid bis(hydroxyethyl)methylalkylamonný	0,47	0,47	1,20	1,20	1,20
SKS-6	7,50	7,50	5,17	5,76	5,06
Polyakrylátový kopolymer (MW 11 000) (poměr maleát/akrylát 4:6)	7,03	7,03	14,36	14,36	14,36
Zeolit	11,90	11,40	10,69	11,34	11,34
Uhličitan	14,90	14,82	11,71	11,18	11,18
Křemičitan	12,00	12,00	12,37	12,38	12,38
Proteáza ¹	0,016	0,016	0,046	0,046	0,046
Lipáza	-	-	0,28	-	-
Amyláza	-	-	0,62	-	-
Celulóza	-	-	0,48	-	0,70
NOBS	3,75	3,75	2,70	2,70	2,70
PB1	3,53	-	2,60	-	-
Peroxouhličitan sodný	-	4,21	-	3,16	3,16
SRP	0,52	0,52	0,70	0,70	0,70
Zjasňovač	0,31	0,31	0,28	0,28	0,50
AE-kopovlak	0,17	0,20	0,17	0,17	0,17
Polydimethylsiloxan	-	-	0,68	0,68	0,68
Parfém	0,06	0,06	0,08	-	-
Parfém	-	-	-	0,23	0,23
Hydrofobní precipitovaný oxid křemičitý	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
PEG 4 000	0,19	0,19	0,17	0,17	0,17
Minoritní / inertní složky do 100 %					

Bylo popsáno pouze zvláštní provedení předmětu vynálezu, odborníkům v oboru však bude zřejmé, že jsou proveditelné různé změny a modifikace předmětu vynálezu, aniž by se duchu a rámci vynálezu vymykaly. Připojené nároky mají pokrýt všechny modifikace, které jsou v rámci předkládaného vynálezu.

Prostředky podle předkládaného vynálezu jsou vhodně připravitelné jakýmkoliv postupem vybraným formulátorem, nelimitující příklady se popisují v U.S. patentech 5,691,297; 5,574,005; 5,569,645; 5,565,422; 5,516,448; 5,489,392 a 5,486,303.

Kromě výše uvedených příkladů se bělicí prostředky podle předkládaného vynálezu mohou formulovat do jakéhokoli vhodného pracího prostředku, nelimitující příklady se popisují v U.S. patentech 5,679,630; 5,565,145; 5,478,489; 5,470,507; 5,466,802; 5,460,752; 5,458,810; 5,458,809 a 5,288,431.

Po detailním popisu předkládaného vynálezu s odkazem na výhodná provedení a uvedení příkladů bude odborníkovi v oboru zřejmé, že jsou proveditelné různé změny a modifikace aniž by se vymykaly rámci vynálezu a vynález že se neomezuje pouze na to, co se popisuje ve specifikaci.

Průmyslová využitelnost

Předkládaný vynález poskytuje bělicí prostředky obsahující mnohočetně substituované proteázové varianty, zahrnující detergentní prostředky pro čištění pevných povrchů, detergentní prostředky pro čištění tkanin, prostředky na mytí nádobí, prostředky osobní čistoty, orální bělicí prostředky, bělicí prostředky na umělý chrup. Předkládaný vynález poskytuje také způsoby čištění pevných povrchů pomocí bělicích prostředků podle předkládaného vynálezu, které obsahují proteázovou variantu.

Mnohočetně substituované proteázové varianty podle předkládaného vynálezu jsou vhodné pro použití ve vysoké a nízké granulární hustotě, v tekutých prostředcích s velkou účinností a v tekutých prostředcích k běžnému použití, tabletách, práscích, gelech, pěnách, sprejích, pastách, v prostředcích se syntetickým detergentem a dalších bělicích prostředcích.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Bělící prostředek v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje:
 - a) efektivní množství proteázové varianty, která obsahuje substituci aminokyselinového zbytku v poloze odpovídající poloze 103 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem, ve spojení se substitucí aminokyselinového zbytku v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 a 275 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem; a v případě, že proteázová varianta obsahuje substituci aminokyselinového zbytku v polohách odpovídajících polohám 103 a 76, je také substituován aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách aminokyselinového zbytku výše uvedených jiných než polohy aminokyselinových zbytků odpovídající polohám 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 nebo 274 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*;
 - b) bělící činidlo, což je buď organická peroxokyselina nebo kombinace bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku organické peroxokyseliny *in situ* v bělícím roztoku vytvořeném z prostředku; a
 - c) jednu nebo více pomocných čistících látek
2. Bělící prostředek podél nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta se odvozuje od subtilisinu *Bacillus*, výhodně od subtilisinu *Bacillus lentus* nebo subtilisinu 309.

3. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta obsahuje substituci aminokyselinových zbytků v poloze 103 a v jedné nebo více následujících polohách 236 a 245, výhodně v polohách 103 a 236 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 230, 232, 248, 252, 257, 260 270 a 275 nebo v polohách 103 a 245 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 104, 109, 130, 131, 159, 170, 183, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 222, 230, 232, 248, 252, 257, 260, 261, 270 a 275, výhodněji v polohách 103, 236 a 245 a v jedné nebo více následujících polohách 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 230, 232, 248, 252, 257, 260, 270 a 275.
4. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta obsahuje sadu substitucí vybranou ze skupiny obsahující:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 12/76/103/104/130/170/185/222/243/245;
 12/76/103/104/130/222/245/261; 12/76/103/104/222/245;
 12/76/103/104/130/222/245;
 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;

21.05.00

68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
 68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
 68/76/103/104/159/236; 68/76/103/104/159/236/245;
 68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
 68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
 68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
 68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
 68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/103/104/159/236;
 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260; 68/103/104/159/236/245;
 68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/76/103/104/159/236/245;
 68/103/104/232/236/245/257/275; 68/103/104/159/213/232/236/245;
 76/103/222/245; 76/103/104/159/232/236/245;
 76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/159;
 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252; 76/103/104/222/245;
 97/103/104/159/232/236/245/248/252;
 98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
 101/103/104/159/232/236/245/248/252; 102/103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/232/236/245; 103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
 103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/230/236/245; 103/104/159/236/245;
 103/104/159/248/252/270; 103/104/131/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/205/209/232/236/245; a 103/104/159/232/236/245/257.

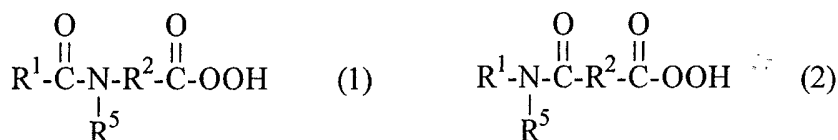
5. Bělící prostředek podle nároku 4 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta obsahuje sadu substitucí vybranou ze skupiny obsahující:

12R/76D/103A/104T/130T/222S/245R;
 12R/76D/103A/104I/222S/245R;
 12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
 12R/76D/103A/104T/130G/222S/245R/261D;
 12R/76D/103A/104T/130G/170S/185D/222S/243D/245R;
 61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
 68A/103A/104I/159D/236H;
 68A/103A/104I/159D/236H/245R;
 68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
 68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
 68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
 68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
 68A/76D/103A/104I/159D/236H;
 68A/76D/103A/104I/159D/236H/245R;
 68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
 68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;

68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
 68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
 68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
 68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
 76D/103A/222S/245R;
 76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
 76D/103A/104I/159D;
 76D/103A/104I/222S/245R;
 76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
 97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
 101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/230V/236H/245R;
 103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/236H/245R;
 103A/104I/159D/248D/252K/270V;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R;
 103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
 103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
 103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; a
 103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

6. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící činidlo se vybírá ze skupiny obsahující:

i) organickou peroxokyselinu vybranou ze skupiny organických kyselin obecného vzorce 1 a 2:



kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^2 je alkylenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku a R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku; E-ftalimidokapronové kyseliny a jejich směsi a

ii) kombinaci bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku organické peroxokyseliny *in situ* v bělícím roztoku vytvořeném z prostředku, bělidlový aktivátor má obecný vzorec 3:



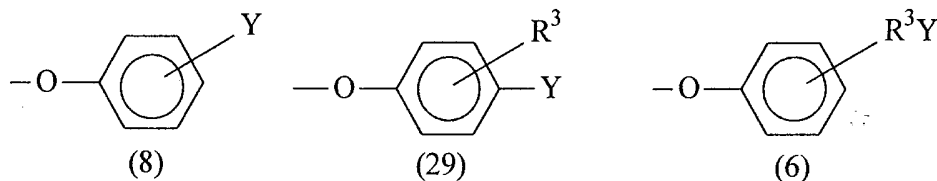
kde R je alkylová skupina obsahující 5 až 18 atomů uhlíku, kde nejdelší lineární alkylový řetězec vycházející z a obsahující karbonylový uhlík obsahuje 6 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina, jejíž konjugovaná kyselina má pK_a v rozmezí 4 až 13;

výhodně má bělidlový aktivátor obecný vzorec 4 a 5:



nebo jejich směsi, kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^2 je alkylenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku a R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina; výhodněji je R^1 alkylová skupina obsahující 6 až 12 atomů uhlíku, R^2 obsahuje 1 až 8 atomů uhlíku a R^5 je H nebo methylová skupina.

7. Bělící prostředek podle nároku 6 v y z n a č u j í c í s e t í m, že R^1 je alkylová skupina obsahující 7 až 10 atomů uhlíku, R^2 obsahuje 4 až 5 atomů uhlíku a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 6, 8 a 29:



Kde R^3 je alkylový řetězec obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a Y je $\text{—SO}_3\text{—M}^+$ nebo $\text{—CO}_2\text{—M}^+$, kde M je sodík nebo draslík.

8. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící činidlo obsahuje bělidlový aktivátor vybraný ze skupiny obsahující tetraacetythyldiamin (TAED), benzoylkaprolaktam (BzCl), 4-nitrobenzoylkaprolaktam, 3-chlorbenzoylkaprolaktam, benzoyloxybenzensulfonát (BOBS), nonanoyloxybenzensulfonát (NOBS), fenylbenzoát (PhBz), dekanoyloxybenzensulfonát ($\text{C}_{10}\text{—OBS}$), benzoylvalerolaktam (BZVL), oktanoyloxybenzensulfonát ($\text{C}_8\text{—OBS}$), perhydrolyzovatelné estery, sodnou sůl 4-[N-(nonanoyl)aminohexanoyloxy]-benzensulfonátu (NACA-OBS), lauryloxybenzensulfonát (LOBS nebo $\text{C}_{12}\text{—OBS}$), 10- undecenoyloxybenzensulfonát (UDOBS nebo $\text{C}_{11}\text{—OBS}$, v poloze 10 nenasycený), a dekanoyloxybenzoovou kyselinu (DOBA) a jejich směsi, a dále výhodně obsahuje bělidlový katalyzátor, výhodně propansulfonát 3-(3,4-dihydroxyisochinolinu).

9. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící činidlo obsahuje nejméně 0,1 % své hmotnosti peroxygenové bělící sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku ve vodné tekutině a nejméně 0,1 % své hmotnosti jednoho nebo více bělidlových aktivátorů, které se vybírají ze skupiny obsahující:

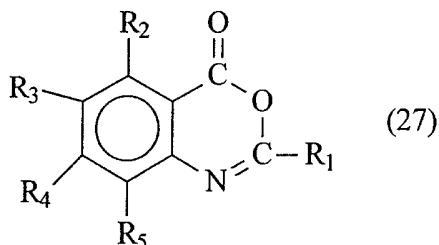
- a) bělidlový aktivátor obecného vzorce 4 a 5:



nebo jejich směsi, kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^2 je alkylénová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1

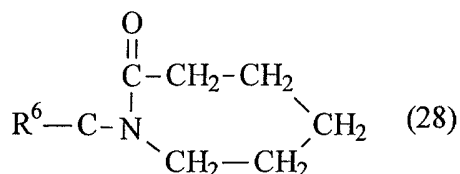
až 14 atomů uhlíku a R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina;

b) bělidlový aktivátor benzoxazinového typu obecného vzorce 27:



kde R_1 je H, alkylová, arylová, arylalkylová skupina a kde R_2 , R_3 , R_4 a R_5 jsou stejné nebo rozdílné substituenty vybrané ze skupiny obsahující H, halogen, alkylovou, alkenylovou, arylovou, hydroxylovou, alkoxylovou, amino-, alkylamino-, $-COOR_6$ skupinu, kde R_6 je H nebo alkylová skupina a karbonylové funkční skupiny;

c) bělidlový aktivátor N-acylkaprolaktamového typu obecného vzorce 28:



kde R^6 je H nebo alkylová, arylová, alkoxyarylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 12 atomů uhlíku; a

d) směsí a), b), a c).

10. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že karboxylová kyselina odpovídající organické peroxokyselině bělícího činidla má hodnotu hydrofilní-lipofilní rovnováhy v rozmezí 3 až 6,5.
11. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky se vybírají ze skupiny obsahující surfaktanty, rozpouštědla, pufry, enzymy, činidla uvolňující skvrny, činidla odstraňující jílovité skvrny, disperzační činidla, zjasňovače, supresory tvorby mydlin, změkčovače tkanin, zesilovače tvorby mydlin, enzymové stabilizéry, plnidla, další bělící činidla, barviva, parfémy, chelanty a jejich směsi.

12. Bělící prostředek podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky obsahují nejméně jeden deterdivní surfaktant, výhodně rozvětvený surfaktant, výhodněji uprostřed řetězce rozvětvený surfaktant.
13. Bělící prostředek podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky obsahují nejméně 0,1 % surfaktantu z hmotnosti prostředku, surfaktant obsahuje látky vybrané ze skupiny obsahující alkylbenzensulfonáty, primární alkylsírany, sekundární alkylsírany, alkylalkoxysírany, alkylalkoxykaboxyláty, alkylpolyglykosidy a odpovídající síranované polyglykosidy, estery alfa-sulfonovaných mastných kyselin, alkyl a alkylfenolalkoxyláty, betainy a sulfobetainy, aminoxidy, N-methylglukamidy, neiontové primární alkoholethoxyláty, neiontové primární směsné alkoholethoxy/propoxyláty a jejich směsi.
14. Bělící prostředek podle nároku 13 v y z n a č u j í c í s e t í m, že dále obsahuje nejméně 5 % plnidla vybraného ze skupiny obsahující zeolity, polykarboxyláty, vrstvené křemičitany, fosfáty a jejich směsi.
15. Bělící prostředek podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky obsahují nejméně jeden deterdivní enzym vybraný ze skupiny obsahující cellulázy, lipázy, amylázy, fosfolipázy, jiné proteázy, peroxidázy a jejich směsi.
16. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící prostředek je bělící prostředek na tkaniny, výhodně ve formě tekutiny, granule, tablet, prášku nebo kostky, obsahující nejméně 5 % surfaktantu a nejméně 5 % plnidla z hmotnosti prostředku.
17. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící prostředek je bělící prostředek na tkaniny obsahující:
 - a) 0,0001 až 10 hmot. % proteázové varianty,
 - b) 0,5 až 20 hmot. % bělícího činidla
 - c) nejméně 5 hmot. % surfaktantu výhodně vybíraného ze skupiny obsahující alkylbenzensulfonáty, primární alkylsírany, sekundární alkylsírany, alkylalkoxysírany,

alkylalkoxykaboxy láty, alkylpolyglykosidy a odpovídající síranované polyglykosidy, estery alfa-sulfonovaných mastných kyselin, alkyl a alkylfenolalkoxy láty, betainy a sulfobetainy, aminoxidy, N-methylglukamidy, neiontové primární alkoholethoxy láty, neiontové primární směsné alkoholethoxy/propoxy láty a jejich směsi.

d) nejméně 5 hmot. % plnidla výhodně vybraného ze skupiny obsahující zeolity, polykarboxyláty, vrstvené křemičitany, fosfáty a jejich směsi.

18. Bělící prostředek podle nároku 17 v y z n a č u j í c í s e t í m, že je ve formě koncentrovaného granulárního bělicího prostředku na tkaniny obsahujícího nejméně 15 % surfaktantu.
19. Způsob čištění tkanin v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt tkaniny určené k čištění s bělicím prostředkem podle kteréhokoliv z předchozích nároků 16 nebo 17.
20. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělicí prostředek je bělicí prostředek na nádobí, výhodně ve formě tekutiny, granule, prášku nebo tablety, obsahující:
 - a) 0,0001 až 10 % proteázové varianty z hmotnosti bělicího prostředku na nádobí;
 - b) 0,5 až 20 % bělicího činidla z hmotnosti bělicího prostředku na nádobí;
 - c) 0,1 až 10 % surfaktantu z hmotnosti bělicího prostředku na nádobí.
21. Způsob čištění nádobí v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt nádobí určeného k čištění s bělicím prostředkem podle nároku 20.
22. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělicí prostředek je prostředek osobní očisty, obsahující:
 - a) 0,001 až 5 %, výhodně 0,001 až 2 %, výhodněji 0,01 až 0,8 % z hmotnosti prostředku osobní očisty proteázové varianty, která obsahuje substituci aminokyselinového zbytku v poloze odpovídající poloze 103 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens* jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem, ve spojení se substitucí aminokyselinového zbytku v jedné nebo více polohách

odpovídajících polohám 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 a 275 subtilisinu *Bacillus*

amyloliquefaciens jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem; a v případě, že proteázová varianta obsahuje substituci aminokyselinového zbytku v polohách odpovídajících polohám 103 a 76, je také substituován aminokyselinový zbytek v jedné nebo více polohách aminokyselinového zbytku výše uvedených jiných než polohy aminokyselinových zbytků odpovídající polohám 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 nebo 274 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*;

- b) 0,5 až 20 % z hmotnosti prostředku osobní očisty bělicího činidla, což je buď organická peroxokyselina nebo kombinace bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku organické peroxokyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku; a
- c) 0,1 až 95 % z hmotnosti prostředku osobní očisty surfaktantového systému výhodně obsahujícího jeden nebo více surfaktantů vybíraných ze skupiny obsahující aniontové karboxyláty, aminoxidy, alkylglukosidy, glukosamidy, alkylsírany, alkylethersírany, acylisethionáty, alkylsulfosukcináty, estery alkylfosfátů, estery ethoxylovynách fosfátů, alkylglycerylethersulfonáty a jejich směsi, výhodněji obsahujícího jeden nebo více surfaktantů vybíraných ze skupiny obsahující mýdla, acylglutamáty, alkylsarkosináty, lauraminoxidy, kokaminoxidy, kokamindopropylaminoxidy, decylglukosidy, laurylsírany, lauretsírany, C₁₂-C₁₈ acylisethionáty a jejich směsi; a
- d) výhodně 0,05 až 50 % z hmotnosti prostředku osobní očisty enzymového stabilizátoru.

23. Bělící prostředek podle nároku 22 v y z n a č u j í c í s e t í m, že surfaktant je mýdlo v objemu nejméně 2 %, výhodněji nejméně 10 %, ještě výhodněji nejméně 25 % z hmotnosti bělicího prostředku.
24. Bělící prostředek podle nároku 23 v y z n a č u j í c í s e t í m, že poměr mýdla a proteázové varianty je 2 000:1 až 8:1, výhodněji 400:1 až 40:1.
25. Způsob osobní očisty v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt části lidského těla nebo těla nižšího živočicha určené k čištění s bělicím prostředkem podle nároku 22.
26. Způsob předpírky tkaniny určené k čištění v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt tkaniny před vlastním praním s vodným roztokem obsahujícím surfaktant s bělicím prostředkem podle kteréhokoliv z předchozích nároků 16 nebo 17.
27. Bělící prostředek v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje:
- a) efektivní množství proteázové varianty, která obsahuje substituci aminokyselinového zbytku jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*;
 - b) bělicí činidlo, což je buď organická peroxokyselina nebo kombinace bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku organické peroxokyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku; a
 - c) jednu nebo více pomocných čistících látek
28. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta se odvozuje od subtilisinu *Bacillus*, výhodně od subtilisinu *Bacillus lentus* nebo subtilisinu 309.

29. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta obsahuje substituce aminokyselinových zbytků v jedné nebo více následujících polohách vybíraných ze skupiny obsahující:
- 1) polohu 62 a jednu nebo více následujících poloh 103, 104, 109, 159, 213, 232, 236, 245, 248 a 252;
 - 2) polohu 212 a jednu nebo více následujících poloh 12, 98, 102, 103, 104, 159, 232, 236, 245, 248 a 152;
 - 3) polohu 230 a jednu nebo více následujících poloh 68, 103, 104, 159, 232, 236 a 245;
 - 4) polohu 232 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 5) polohu 232 a jednu nebo více následujících poloh 103, 104, 236 a 245;
 - 6) polohy 232 a 103 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 7) polohy 232 a 104 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 8) polohy 232 a 236 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 9) polohy 232 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 10) polohy 232, 103, 104, 236 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 11) polohu 252 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
 - 12) polohu 252 a jednu nebo více následujících poloh 103, 104, 236 a 245;

- 13) polohy 252 a 103 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 14) polohy 252 a 104 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 15) polohy 252 a 236 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 16) polohy 252 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 17) polohy 252, 103, 104, 236 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 18) polohu 257 a jednu nebo více následujících poloh 68, 103, 104, 205, 209, 210, 232, 236, 245 a 275.
30. Čistící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta obsahuje substituční sadu vybíranou ze skupiny obsahující

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
 68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
 68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
 68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
 68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
 68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
 68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
 68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260;
 68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/103/104/232/236/245/257/275;
 68/103/104/159/213/232/236/245; 76/103/104/159/232/236/245;
 76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
 97/103/104/159/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
 98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 101/103/104/159/232/236/245/248/252;
 102/103/104/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/232/236/245;
 103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
 103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
 103/104/131/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/205/209/232/236/245; a
 103/104/159/232/236/245/257.

31. Čistící prostředek podle nároku 30 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta obsahuje substituční sadu vybíranou ze skupiny obsahující:

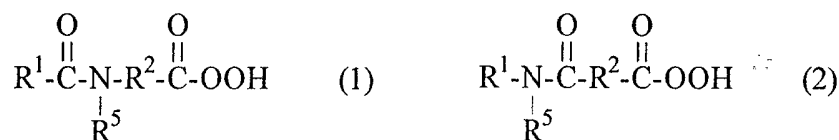
12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;

68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;

101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; a
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

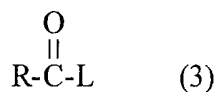
32. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící činidlo se vybírá ze skupiny obsahující:

i) organickou peroxokyselinu vybranou ze supiny organických kyselin obecného vzorce 1 a 2:



kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^2 je alkýlenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku a R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku; E-ftalimidokapronové kyseliny a jejich směsi a

ii) kombinaci bělidlového aktivátoru a a peroxygenové sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku organické peroxokyseliny *in situ* v bělícím roztoku vytvořeném z prostředku, kde bělidlový aktivátor má obecný vzorec 3:



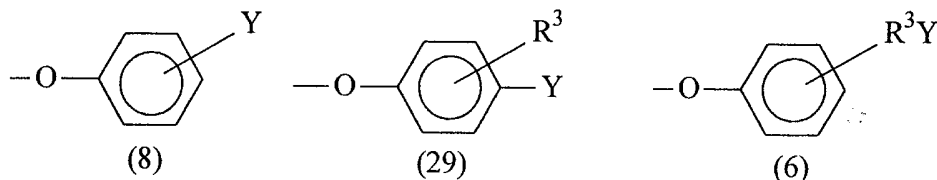
kde R je alkylová skupina obsahující 5 až 18 atomů uhlíku, kde nejdelší lineární alkylový řetězec vycházející z a obsahující karbonylový uhlík obsahuje 6 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina, jejíž konjugovaná kyselina má pKa v rozmezí 4 až 13;

výhodně je bělidlový aktivátor obecného vzorce 4 a 5:



nebo jejich směsi, kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^2 je alkýlenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku a R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina; výhodněji je R^1 alkylová skupina obsahující 6 až 12 atomů uhlíku, R^2 obsahuje 1 až 8 atomů uhlíku a R^5 je H nebo methylová skupina.

33. Bělící prostředek podle nároku 32 v y z n a č u j í c í s e t í m, že R^1 je alkylová skupina obsahující 7 až 10 atomů uhlíku, R^2 obsahuje 4 až 5 atomů uhlíku a L se vybírá ze skupiny obsahující odstupující skupiny obecného vzorce 6, 8 a 29:

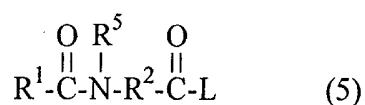
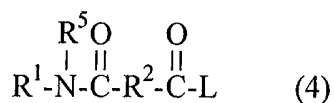


kde R^3 je alkylový řetězec obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a Y je $\text{—SO}_3\text{—M}^+$ nebo $\text{—CO}_2\text{—M}^+$, kde M je sodík nebo draslík.

34. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící činidlo obsahuje bělidlový aktivátor vybraný ze skupiny obsahující tetraacetylenylendiamin (TAED), benzoylkaprolaktam (BzCl), 4-nitrobenzoylkaprolaktam, 3-chlorbenzoylkaprolaktam, benzoyloxybenzensulfonát (BOBS), nonanoyloxybenzensulfonát (NOBS), fenylbenzoát (PhBz), dekanoyloxybenzensulfonát ($\text{C}_{10}\text{—OBS}$), benzoylvalerolaktam (BZVL), oktanoyloxybenzensulfonát ($\text{C}_8\text{—OBS}$), perhydrolyzovatelné estery, sodnou sůl 4-[N-(nonanoyl)aminohexanoyloxy]-benzensulfonátu (NACA-OBS), lauryloxybenzensulfonát (LOBS nebo $\text{C}_{12}\text{—OBS}$), 10- undecenoyloxybenzensulfonát (UDOBS nebo $\text{C}_{11}\text{—OBS}$, v poloze 10 nenasycený), a dekanoyloxybenzoovou kyselinu (DOBA) a jejich směsi, a dále výhodně obsahuje bělidlový katalyzátor, výhodně propansulfonát 3-(3,4-dihydroxyisochinolinu).

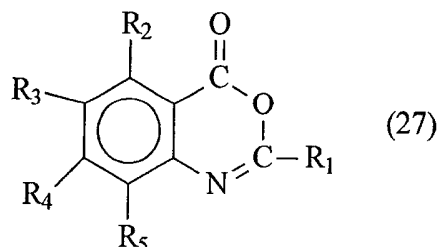
35. Bělící prostředek podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělící činidlo obsahuje nejméně 0,1 % své hmotnosti peroxygenové bělící sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku ve vodné tekutině a nejméně 0,1 % své hmotnosti jednoho nebo více bělidlových aktivátorů, které se vybírají ze skupiny obsahující:

- a) bělidlový aktivátor obecného vzorce 4 a 5:



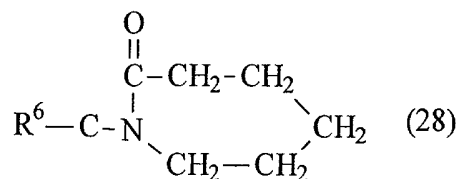
nebo jejich směsi, kde R^1 je alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku, R^2 je alkýlenová, arylenová nebo alkarylenová skupina obsahující 1 až 14 atomů uhlíku a R^5 je H nebo alkylová, arylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 10 atomů uhlíku a L je odstupující skupina;

b) bělidlový aktivátor benzoxazinového typu obecného vzorce 27:



kde R_1 je H, alkylová, arylová, arylalkylová skupina a kde R_2 , R_3 , R_4 a R_5 jsou stejné nebo rozdílné substituenty vybrané ze skupiny obsahující H, halogen, alkylovou, alkenylovou, arylovou, hydroxylovou, alkoxylovou, amino-, alkylamino-, $-COOR_6$ skupinu, kde R_6 je H nebo alkylová skupina a karbonylové funkční skupiny

c) bělidlový aktivátor N-acylkaprolaktamového typu obecného vzorce 28:



kde R^6 je H nebo alkylová, arylová, alkoxyarylová nebo alkarylová skupina obsahující 1 až 12 atomů uhlíku; a

d) směsí a), b), a c).

36. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že karboxylová kyselina odpovídající organické peroxokyselině bělicího činidla má hodnotu hydrofilní-lipofilní rovnováhy v rozmezí 3 až 6,5.
37. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky se vybírají ze skupiny obsahující surfaktanty, rozpouštědla, pufrý, enzymy, činidla uvolňující skvrny, činidla odstraňující jílovité skvrny, disperzační činidla, zjasňovače, supresory tvorby mydlin, změkčovače tkanin, zesilovače tvorby mydlin, enzymové stabilizéry, plnidla, další bělicí činidla, barviva, parfémy, chelanty a jejich směsi.

38. Bělící prostředek podle nároku 37 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky obsahují nejméně jeden deterdivní surfaktant, výhodně rozvětvený surfaktant, výhodněji uprostřed řetězce rozvětvený surfaktant.
39. Bělící prostředek podle nároku 37 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky obsahují nejméně 0,1 % surfaktantu z hmotnosti prostředku, surfaktant obsahuje látky vybrané ze skupiny obsahující alkylbenzensulfonáty, primární alkylsířany, sekundární alkylsířany, alkylalkoxysířany, alkylalkoxykaboxyláty, alkylpolyglykosidy a odpovídající sířanované polyglykosidy, estery alfa-sulfonovaných mastných kyselin, alkyl a alkylfenolalkoxyláty, betainy a sulfobetainy, aminoxidy, N-methylglukamidy, neiontové primární alkoholethoxyláty, neiontové primární směsné alkoholethoxy/propoxyláty a jejich směsi.
40. Bělící prostředek podle nároku 39 v y z n a č u j í c í s e t í m, že dále obsahuje nejméně 5 % plnidla vybraného ze skupiny obsahující zeolity, polykarboxyláty, vrstvené křemičitan, fosfáty a jejich směsi.
41. Bělící prostředek podle nároku 37 v y z n a č u j í c í s e t í m, že pomocné čisticí látky obsahují nejméně jeden deterdivní enzym vybraný ze skupiny obsahující cellulázy, lipázy, amylázy, fosfolipázy, jiné proteázy, peroxidázy a jejich směsi.
42. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělicí prostředek je bělicí prostředek na tkaniny, výhodně ve formě tekutiny, granule, tablet, prášku nebo kostky, obsahující nejméně 5 % surfaktantu a nejméně 5 % plnidla z hmotnosti prostředku.
43. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělicí prostředek je bělicí prostředek na tkaniny obsahující:
- a) 0,0001 až 10 hmot. % proteázové varianty,
 - b) 0,5 až 20 hmot. % bělicího činidla
 - c) nejméně 5 hmot. % surfaktantu výhodně vybraného ze skupiny obsahující alkylbenzensulfonáty, primární alkylsířany, sekundární alkylsířany, alkylalkoxysířany,

alkylalkoxykarboxyláty, alkylpolyglykosidy a odpovídající síranované polyglykosidy, estery alfa-sulfonovaných mastných kyselin, alkyl a alkylfenolalkoxyláty, betainy a sulfobetainy, aminoxidy, N-methylglukamidy, neiontové primární alkoholethoxyláty, neiontové primární směsné alkoholethoxy/propoxyláty a jejich směsi.

d) nejméně 5 hmot. % plnidla výhodně vybíraného ze skupiny obsahující zeolity, polykarboxyláty, vrstvené křemičitany, fosfáty a jejich směsi.

44. Bělící prostředek podle nároku 43 v y z n a č u j í c í s e t í m, že je ve formě koncentrovaného granulárního bělicího prostředku na tkaniny obsahujícího nejméně 15 % surfaktantu.
45. Způsob čištění tkanin v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt tkaniny určené k čištění s bělicím prostředkem podle kteréhokoliv z předchozích nároků 42 nebo 43.
46. Bělící prostředek podle nároku 27 v y z n a č u j í c í s e t í m, že bělicí prostředek je bělicí prostředek na nádobí, výhodně ve formě tekutiny, granule, prášku nebo tablety, obsahující:
- a) 0,0001 až 10 % proteázové varianty z hmotnosti bělicího prostředku na nádobí;
 - b) 0,5 až 20 % bělicího činidla z hmotnosti bělicího prostředku na nádobí;
 - c) 0,1 až 10 % surfaktantu z hmotnosti bělicího prostředku na nádobí.
47. Způsob čištění nádobí v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt nádobí určeného k čištění s bělicím prostředkem podle nároku 46.
48. Prostředek osobní očisty v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje:
- a) 0,001 až 5 %, výhodně 0,001 až 2 %, výhodněji 0,01 až 0,8 % z hmotnosti prostředku osobní očisty proteázové varianty, která obsahuje substituci aminokyselinového zbytku jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*;

- b) 0,5 až 20 % z hmotnosti prostředku osobní očisty bělicího činidla, což je buď organická peroxokyselina nebo kombinace bělidlového aktivátoru a peroxygenové sloučeniny schopné uvolňovat peroxid vodíku, který reaguje s aktivátorem za vzniku organické peroxokyseliny *in situ* v bělicím roztoku vytvořeném z prostředku; a
- c) 0,1 až 95 % z hmotnosti prostředku osobní očisty surfaktantového systému výhodně obsahujícího jeden nebo více surfaktantů vybíraných ze skupiny obsahující aniontové karboxyláty, aminoxidy, alkylglukosidy, glukosamidy, alkylsírany, alkylethersírany, acylisethionáty, alkylsulfosukcináty, estery alkylfosfátů, estery ethoxylovynách fosfátů, alkylglycerylethersulfonáty a jejich směsi, výhodněji obsahujícího jeden nebo více surfaktantů vybíraných ze skupiny obsahující mýdla, acylglutamáty, alkylsarkosináty, lauraminoxidy, kokaminoxidy, kokamindopropylaminoxidy, decylglukosidy, laurylsírany, lauretsírany, C₁₂-C₁₈ acylisethionáty a jejich směsi; a
- d) výhodně 0,05 až 50 % z hmotnosti prostředku osobní očisty enzymového stabilizátoru.
49. Bělicí prostředek podle nároku 48 v y z n a č u j í c í s e t í m, že surfaktant je mýdlo v objemu nejméně 2 %, výhodněji nejméně 10 %, ještě výhodněji nejméně 25 % z hmotnosti bělicího prostředku.
50. Bělicí prostředek podle nároku 49 v y z n a č u j í c í s e t í m, že poměr mýdla a proteázové varianty je 2 000:1 až 8:1, výhodněji 400:1 až 40:1.
51. Způsob osobní očisty v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt části lidského těla nebo těla nižšího živočicha určené k čištění s bělicím prostředkem podle nároku 48.
52. Způsob předpírky tkaniny určené k čištění v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt tkaniny před vlastním praním s vodným roztokem obsahujícím surfaktant s bělicím prostředkem podle kteréhokoliv z předchozích nároků 42 nebo 43.

53. Bělící prostředek v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje:
- a) efektivní množství proteázové varianty, která obsahuje substituci aminokyselinového zbytku jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*; proteázová varianta obsahuje substituce aminokyselinových zbytků v jedné nebo více následujících polohách vybíraných ze skupiny obsahující:
- 1) polohu 62 a jednu nebo více následujících poloh 103, 104, 109, 159, 213, 232, 236, 245, 248 a 252;
 - 2) polohu 212 a jednu nebo více následujících poloh 12, 98, 102, 103, 104, 159, 232, 236, 245, 248 a 152;
 - 3) polohu 230 a jednu nebo více následujících poloh 68, 103, 104, 159, 232, 236 a 245;
 - 4) polohu 232 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 5) polohu 232 a jednu nebo více následujících poloh 103, 104, 236 a 245;
 - 6) polohy 232 a 103 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 7) polohy 232 a 104 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 8) polohy 232 a 236 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 9) polohy 232 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;
 - 10) polohy 232, 103, 104, 236 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 a 275;

- 11) polohu 252 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 12) polohu 252 a jednu nebo více následujících poloh 103, 104, 236 a 245;
- 13) polohy 252 a 103 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 14) polohy 252 a 104 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 15) polohy 252 a 236 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 16) polohy 252 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 17) polohy 252, 103, 104, 236 a 245 a jednu nebo více následujících poloh 12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 a 270;
- 18) polohu 257 a jednu nebo více následujících poloh 68, 103, 104, 205, 209, 210, 232, 236, 245 a 275.

54. Bělící prostředek v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje:

- a) efektivní množství proteázové varianty, která obsahuje substituci aminokyselinového zbytku jiným přirozeně se vyskytujícím aminokyselinovým zbytkem v jedné nebo více polohách odpovídajících polohám 62, 212, 230, 232, 252 a 257 subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*; proteázová varianta obsahuje sadu substitucí vybíraných ze skupiny obsahující:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/103/104/232/236/245/257/275;

68/103/104/159/213/232/236/245; 76/103/104/159/232/236/245;
76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
97/103/104/159/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 101/103/104/159/232/236/245/248/252;
102/103/104/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/232/236/245;
103/104/159/248/252/270; 103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/131/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/205/209/232/236/245; a
103/104/159/232/236/245/257.

55. Bělící prostředek podle nároku 54 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteázová varianta obsahuje sadu substitucí vybíraných ze skupiny obsahující:

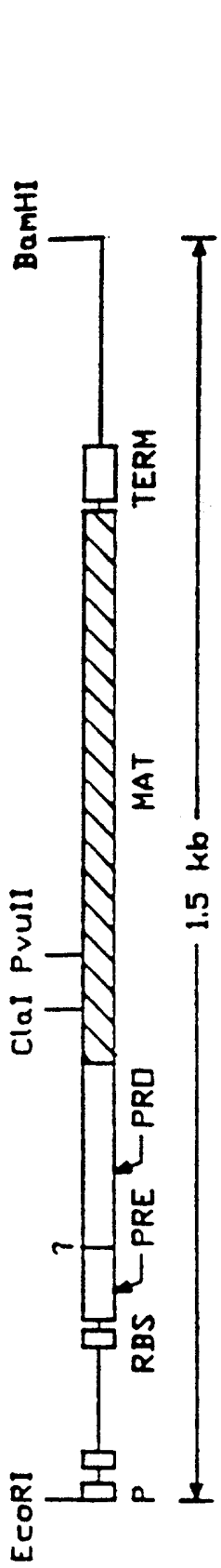
12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

168
164e

12.07.00 PV 2000 - 1479

76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/248D/252K/270V;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; and
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

PV 2000-1479



5
1 GGCTACTAAATATTATTCATACATAATACAGATAATCTGCTATTTGTTATTCGCAAAATGAAAAAGGAGGATAAAGA GTG
-107 Met

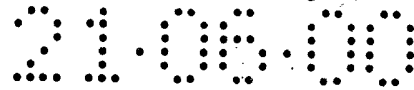
PRE
-100
Arg Gly Lys Lys Val Trp Ile Ser Leu Leu Phe Ala Leu Ala Leu Ile Phe Thr Met Ala Phe Gly Ser Thr Ser
99 AGA GGC AAA AAA GTA TGG ATC AGT TTG CTG TTT GCT TTA GCG TTA ATC TTT ACG ATG GCG TTC GGC AGC ACA TCC

-80
Ser Ala Gln Ala Ala Gly Lys Ser Asn Gly Glu Lys Lys Tyr Ile Val Gly Phe Lys Gln Thr Met Ser Thr Met
174 TCT GCC CAG GCG GCA GGG AAA TCA AAC GCG GAA AAG AAA TAT ATT GTC GGG TTT AAA CAG ACA ATG AGC ACG ATG

-50
Ser Ala Ala Lys Lys Lys Asp Val Ile Ser Glu Lys Gly Lys Gly Lys Val Gln Lys Phe Lys Tyr Val Asp Ala
249 AGC GCC GCT AAG AAG AAA GAT GTC ATT TCT GAA AAA GGC GGG AAA GCG CAA AAG CAA TTC AAA TAT GTA GAC GCA

-30
Ala Ser Ala Thr Leu Asn Glu Lys Ala Val Lys Glu Leu Lys Lys Asp Pro Ser Val Ala Tyr Val Glu Glu Asp
324 GCT TCA GTC ACA TTA AAC GAA AAA GCT GTA AAA GAA TTG AAA AAA GAC CCG AGC GTC GCT TAC GTT GAA GAA GAT

Obr. 1A



His Bal Ala His Ala Tyr Ala Gln Ser Val Pro Tyr Gly Val Ser Gln Ile Lys Ala Pro Ala LEU His Ser Gln
399 CAC GTA GCA CAT GCG TAC GCG CAG TCC TAC GCG GGT TAC GCG GGT TCA CAA ATT AAA GCG CCT GCT GCT CTG CAC TCT CAA

20
Gly Tyr Thr Gly Ser Asn Val Lys Val Ala Val Ile Asp Ser Ser His Pro Asn Leu Ivs Val
474 GGC TAC ACT GGA TCA AAT GTT AAA GTA GCG GTT ATC GAC AGC GGT ATC GAT TCT TCT CAT CCT GAT TTA AAG GTA

30
Ala Gly Gly Ala Ser Met Val Pro Ser Glu Thr Asn Pro Phe Gln Asp Asn Asn Ser His Gly Thr His Val Ala
549 GCA AGC GGA GCC AGC ATG GTT CCT TCT GAA ACA AAT CCT TTC CAA GAC AAC AAC TCT CAC GGA ACT CAC GGT GCC

50
Gly Thr Val Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu Gly Val Ala Pro Ser Ala Ser Leu Tyr Ala Val Lvs
624 GGC ACA GTT GCG GCT CTT AAT AAC TCA ATC GGT GTA TTA GGC GTT GCG CCA AGC GCA TCA CTT TAC GCT GTA AAA

80
Val Leu Gly Ala Asp Gly Ser Gly Gln Tyr Ser Trp Ile Ile Asn Gly Ile Glu Trp Ala Ile Ala Asn Asn Met
699 GTT CTC GGT GCT GAC GGT TCC GCG CAA TAC AGC TGG ATC ATC ATT AAC GGA ATC GAG TGG GCG ATC GCA AAC AAT ATG

100
Asp Val Ile Asn Met Ser Leu Gly Gly Pro Ser Gly Ser Ala Ala Leu Lys Ala Val Asp Lvs Ala Val Ala
774 GAC GTT ATT AAC ATG AGC CTC GCG GGA CCT TCT GGT TCT GCT GCT TTA AAA GCG GCA GGT GAT AAA GCC GTT GCA

120
Ser Gly Val Val Val Val Ala Ala Ala Gly Asn Glu Gly Thr Ser Gly Ser Ser Thr Val Gly Tyr Pro Gly
849 TCC GGC GTC GTA GTC GTT GCG GCA GCC GGT AAC GAA GGC ACT TCC GGC AGC TCA AGC ACA GTG GGC TAC CCT GGT

140
Ser Thr 160

Obr. 1B

PV 2000-1479
23.08.00

```

170      Lvs Tyr Pro Ser Val Ile Ala Val Glv Ala Val Asp Ser Ser Asn Gln Arp Ala Ser Phe Ser Ser Vsl Glv Pro
924 AAA TAC CCT TCT GTC ATT GCA GTA GGC GCT GTT GAC AGC AGC AAC CAA AGA GCA TCT TTC TCA AGC GTA GGA CCT

      200
Glu Leu Asp Val Met Ala Pro Gly Val Ser Ile Gln Ser Thr Leu Pro Gly Asn Lvs Tyr Gly Ala Tyr Asn Glv
999 GAG CTT GAT GTC ATG GCA CCT GGC GTA TCT ATC CAA AGC AGC CTT CCT GGA AAC AAA TAC GGG GCG TAC AAC GGT

      210
      Thr Ser Met Ala Ser Pro His Val Ala Gly Aal Ala Ala Leu Ile Leu Ser Lvs His Pro Asn Trp Thr Asn Thr
1074 ACG TCA ATG GCA TCT CCG CAC GGT GCC GGA GCG GCT GCT TTG ATT CTT TCT AAG CAC CCG AAC TGG ACA AAC ACT

      220
      Gln Val Aro Ser Ser Leu Glu Asn Thr Thr Thr Lvs Leu Gly Asp Ser Phe Tyr Tyr Glv Lvs Glv Leu Ile Asn
1149 CAA GTC CGC AGC AGT TTA GAA AAC ACC ACT ACA AAA CTT GGT GAT TCT TCT TTG TAC TAT GGA AAA GGG CTG ATC AAC

      230
      Val Gln Ala Ala Ala Gln DC
270 Val Gln Ala Ala Ala Gln DC
1224 GTA CAA GCG GCA GCT CAG TAA AACATAAAACGGGCGCTTGGCCCGCGGTTTTTATTATTTTCTCCGCGATGTTCAATCGGCTCC

      240
      250 Gln
      260
      270
1316 ATAATCGACGGATGGCTCCCTCTGAAAATTTTAACGAGAAACGGGGGTGACCCGGCTCAGTCCGTAACGGGCCAACTCCTGAAACGTCCTCAATCGGCG
1416 CTTCCCGGTTTCCGGTCAGCTCAATGCCATAACGGTCGGGGCGGTTTTCTCTGATACCGGGAGACGGCATTCGTAATCGGATC

```

Obr. 1C

Konzervované zbytky v subtilisinech
Bacillus amyloliquefaciens

1	10	20
A Q S V P . G	A P A . H . .	G
21	30	40
. T G S . V K V A V . D . G	H P	
41	50	60
D L . . . G G A S . V P	Q D	
61	70	80
. N . H G T H V A G T . A A L N N S I G		
81	90	100
V L G V A P S A . L Y A V K V L G A . G		
101	110	120
S G . . S . L . . G . E W A . N		
121	130	140
V . N . S L G . P S . S	A . .	
141	150	160
. G V . V V A A . G N . G . . .		
161	170	180
. Y P . . Y A V G A .		
181	190	200
D . . N . . A S F S . . G . . L D . . A		
201	210	220
P G V . . Q S T . P G . . Y . . . N G T		
221	230	240
S M A . P H V A G A A A L . . . K . . .		
241	250	260
W . . . Q . R . . L . N T . . . L G . .		
261	270	
. . Y G . G L . N . . A A . .		

21.08.00

Porovnání sekvencí subtilisinů

B. amyloliquefaciens

B. subtilis

B. licheniformis

B. lentus

01	10	20	30	
A Q S V P Y G V S Q I K A P A L H S Q G Y T G S N V K V A V I D S G I D S S H P P				
A Q S V P Y G I S Q I K A P A L H S Q G Y T G S N V K V A V I D S G I D S S H P P				
A Q T V P Y G I P L I K A D K V Q A H N R G L T G S G V K V A V L D T G I Q A S H P P				
A Q S V P W G I S R V Q A P A A H N R G L T G S G V K V A V L D T G I S T A H P				
41	50	60	70	
D L K V A G G A S M V P S E T N P F Q D N N S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
D L N V R G G A S F V P S E T N P Y Q D G S S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
D L N V V G G A S F V P S E T N P Y Q D G S S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
D L N I R G G A S F V P S E T N P Y Q D G S S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
81	90	100	110	
V L G V A P S A S L Y A V K V L G A D G S G Q Y S S W I I N G I E W A I A N N M D				
V L G V S P S A S L Y A V K V L D S T G S G Q Y S S W I I N G I E W A I A N N M D				
V L G V A P S A S L Y A V K V L N S S G S G Q Y S S W I I N G I E W A I A N N M D				
V L G V A P S A S L Y A V K V L G A S G S G Q Y S S W I I N G I E W A I A N N M D				
121	130	140	150	
V I N M S L G G F S G S A A L K A A V D K A V A S G V V V A A A A S G N S G				
V I N M S L G G P T G S S T A L K A A V D K A V A S G V V V A A A A S G N S G				
V I N M S L G G A S G S T A L K A A V D K A V A S G V V V A A A A S G N S G				
V A N L S L G S P S P S A T L E Q A V N S A T S R G V L V V A A A S G N S G				

